



ANNEX
LIBRARY
B
017501
Cornell University Library
Ithaca, New York
BOUGHT WITH THE INCOME OF THE
SAGE ENDOWMENT FUND
THE GIFT OF
HENRY W. SAGE
1891
Digitized by Google


DATE DUE
D 28 '39
AUG 4 - 1951

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

I. BIND.

MED TRÆSNIT I TEXTEN OG 6 TAVLER.

1876—1882.

AVEC UN RÉSUMÉ EN FRANÇAIS.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP

H. H. THIELES BOGTRYKKERI

1882.

Indhold af I. Bind.

Første Hefte, 1878.

Side

Carlsberg Laboratoriet (med Grundplan) III
Carlsbergfondet, dets Stiftelse og Statuter VII

J. Kjeldahl: Om Ølurts Drejningsevne for plansat Lys og dens Forandring under Gjæringen 1
J. Kjeldahl: Om Extraktbestemmelser 8
J. Kjeldahl: Om Vinaandbestemmelser 18
R. Pedersen: Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa Formeringen af Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ (med to Træsnit og en Tavle) 40
R. Pedersen: Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver (med en Tavle) 72
R. Pedersen: Undersøgelser over Varmegradens Indflydelse paa Udskilningen af Kulsyre hos Byg-Kimplanter i Mørke (med en Tavle) 86

Andet Hefte. 1879.

J. Kjeldahl: Undersøgelser over sukkerdannende Fermenter 107
Undersøgelser over Diastase 121
Diastase-Mængdens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 130
Temperaturens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 136
Indflydelsen af Reaktionens Varighed paa Sukkerdannelsen 141
Maaling af Fermentevne 147
Koncentrationens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 163
Fremmede Stoffers Indflydelse paa Sukkerdannelsen 165
Undersøgelser over Ptyalin (Spytdiastase) 178
Emil Chr. Hansen: Bidrag til Kundskab om hvilke Organismer der kunne forekomme og leve i Øl og Ølurt (med to Tavler) ....185—235
1. Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt 185

Side
2. Om Hinderne 209
3. De af Forfatteren i Øl og Ølurt iagttagne Organismer 222
Oidium lactis Fres. (Den saakaldte Mælkesyregjærsvamp) 235
Rødfarvede Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler 353
Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver. 265
Horvaths Hypothese 271
Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur og Mycoderma Pasteurianum nov. sp. 275
Forklaring over Tavlerne 282
Carlsberg Laboratoriet 292

Tredie Hefte, 1881.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 293
I. Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur (med 3 Træsnit) 293
J. Kjeldahl: Nogle Iagttagelser over Invertin 331
J. Kjeldahl: Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt med særligt Hensyn til Forekomsten af Rørsukker

Fjerde Hefte, 1882.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg. og som kunne udvikle sig i Ølurt (Anden Meddelelse. Med 2 Træsnit) 381
Carlsberg Laboratoriet 455
Rettelser til I. Bind 456

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

FØRSTE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1878.



Carlsberg Laboratoriet.

Det kemiske og fysiologiske Laboratorium paa Bryggeriet Carlsberg ved Kjøbenhavn er oprettet med det Formaal: »ved selvstændige Undersøgelser at prøve de Lærdomme, som Videnskaben allerede har tilvejebragt, og at udvikle dem ved fortsatte Studier til et muligst fuldstændigt videnskabeligt Grundlag for Maltnings-, Brygnings- og Gjærings-Operationerne.« Det er grundlagt i Aaret 1875 af Kaptajn, Brygger J. C. Jacobsen og blev bestyret umiddelbart af ham, indtil det ved Carlsbergfondets Stiftelse den 25. September 1876 stilledes under den af det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab i Henhold til Fondets Statuter valgte Bestyrelse. Dets Bestyrelse bestaar saaledes nu af tre Medlemmer af Videnskabernes Selskab: Professor Barfoed (Formand), Professor Panum og Etatsraad Steenstrup, og to Tilforordnede: Kaptajn Jacobsen og Brygger Kogsbølle. — Om Carlsbergfondet og dets Statuter se Side VII og fl.

Laboratoriet er indrettet i en ældre, frit liggende Bygning paa Sydsiden af Bryggeriets indre Gaard i umiddelbar Nærhed af Fabriklokalerne, hvad der for Tilvejebringelsen af Materialet ved mange Undersøgelser er af ikke ringe Betydning. Af denne Bygning, som har en Udstrækning af omtrent 4700 Kradratfod (470 Kvadratmeter), er den østlige Del med omtrent 2800 Kvadratfod (280 Kvadratmeter) indvendigt ombygget til den Række Lokaler, som i den vedføjede Grundplan ere betegnede med A, B, C, D, E, F, G, H, I og K, medens den øvrige Del, L og M, er forbleven

uforandret og ligesom tidligere benyttes af Bryggeriet, men dog er forbeholdt til senere Udvidelse af Laboratoriet, navnlig til Arbejdsværelser for Assistenter o. a. desl.

Laboratoriet har to Afdelinger, en kemisk og en fysiologisk. De ligge hver for sig, men staa af Hensyn til den Samvirken, som ofte maa finde Sted imellem dem, i en let Forbindelse med hinanden. Hvorledes de for hver især bestemte Lokaler ere fordelte og indrettede, fremgaar af følgende Oversigt:

A. Forstue.

B. Fysiologisk Laboratorium til Forsøg i Mørke, m. m.
1. Thermostatisk Apparat med flere Afdelinger. — 2. Vandluftpompe. — 3. Lufttrykpompe.

C. Fysiologisk Laboratorium til mikroskopiske Arbejder, m. m.
4. Vindkjedel, i Forbindelse med Lufttrykpompen i B og med konstant Vandtryk.

D. Præparatværelse.
5. Skabe.

E. Arbejdsværelse og Vejestue.
6. Stenbord til Vægtskaale.

F. Kemisk Laboratorium til analytiske Arbejder.
7. Arbejdsskab med Dampapparat, Sandbad o. s. v. — 8. Arbejdsskab til Afdampninger o. s. v. — 9. Stenbord til Elementæranalyser o. s. v. — 10. Vandblæseapparat. — 11. Vandluftpompe. — 12. 12. Tørreskabe. — 13. Gasometre med Opstilling til Afløb for Vand.

G. Kemisk Laboratorium til større Arbejder.
14. Faste Ovne til Smeltninger o. desl. — 15. Kvægsølvluftpompe (efter Ludwig). — 16. Svaleapparat til destilleret Vand, i Forbindelse med Dampkjedlen til 7 i F. — 17. 17. Pasteur's Gjæringskar med Dampkar. — 18. 18. Destillerapparat med Opvarmning ved Damp.

H. Kemisk Laboratorium til Arbejder med Svovlbrinte o. desl.; tillige Rengjøringslokale.
19. Arbejdsskab med Svovlbrinteapparat.

I. Rum til Brændsel.

K. Trapperum med Udgang til Gaarden og Opgang til Laboratoriets Magazin.

L. L. Projekterede Arbejdsværelser for Assistenter. De blive færdige i Sommeren 1878.

M. Rum, som er bestemt til Laboratoriets Udvidelse.

Lokalerne ere 11,5 Fod (3,68 Meter) høje og opvarmes ved Ventilationsovne, som forsynes med frisk Luft ved Kanaler under Gulvet. Luften udsuges af Lokalerne gjennem Riste i Gulvet til Kanaler i de hule Skillerumsmure (se Tegningen), som atter staa i Forbindelse med Appelskorstene, der omgive Skorstensrørere, men ere af Støbejern. Ogsaa ved Ventiler under Loftet kan Luften fra Lokalerne, og ligesaa fra Arbejdsskabene, udsuges til Appelskorstenene.

Laboratoriet forsynes med filtreret Vand og med Damp fra Bryggeriet og med Gas fra Frederiksbergs Gasværk.

Begge Laboratoriets Afdelinger ere godt udstyrede med Instrumenter og Apparater. Exempelvis kan nævnes, at der haves fem Mikroskoper, hvoraf et af Zeiss til 700 Kr., et af Nachet til 1000 Kr. og et af Hartnack til 1500 Kr., en kemisk Vægt fra Jüngers Etablissement til 485 Kr., den ovenfor nævnte Kvægsølvluftpompe efter Ludwig, o. s. v. At der i den Henseende ikke er sparet Noget, for at Laboratoriet kan løse sin Opgave paa en fyldestgjørende Maade, vil fremgaa deraf, at der fra dets Grundlæggelse i 1875 indtil Udgangen af September 1877 er anvendt omtrent 17000 Kr. til dets Montering og Forsyning med Instrumenter, Apparater o. desl.

Laboratoriets aarlige Udgift kan indtil videre ansættes til omtrent 12000 Kr., Personalets Lønninger deri indbefattede.

Af Hensyn til den Betydning, som det har for Arbejdernes Fremme, at Laboratoriumsforstanderne bo nær ved Laboratoriet, er der paa Bryggeriet indrettet Fribolig for enhver af dem som ugift. Forøvrigt ansættes de med de ved Statuterne for Carlsbergfondet hjemlede Rettigheder*) og Forpligtelser.

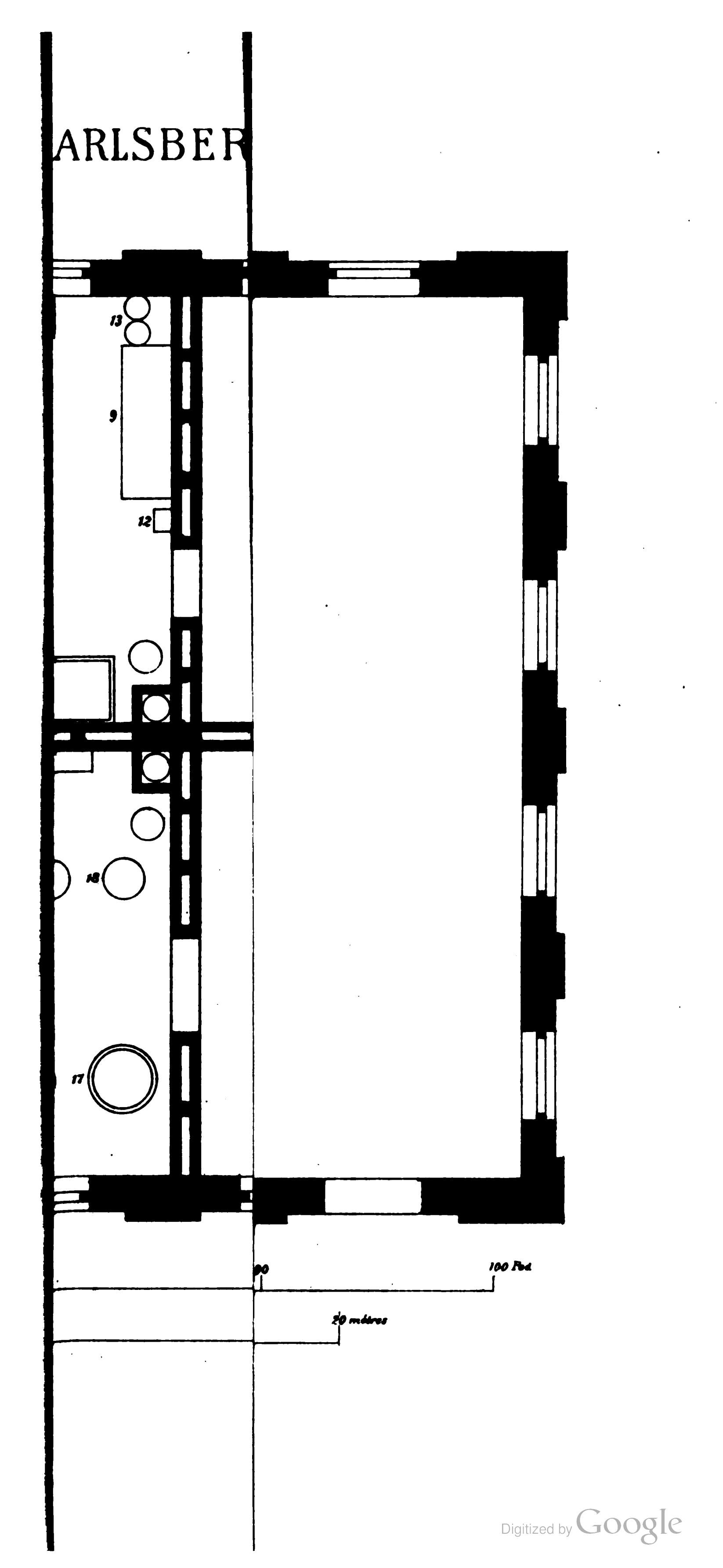
Forstanderposten ved den kemiske Afdeling beklædes af Hr. Cand. polytechnices Johan Kjeldahl, som har været i

*) Til Oplysning om den ved Statuternes § XIII angivne Regel for Forstandernes Lønning skal her bemærkes, at Universitetets Professorer for Tiden lønnes med 3200 Kr. aarlig ved deres Ansættelse og efter 5, 10, 15, 20 og 25 Aars Tjenestetid med henholdsvis 3800, 4400, 5000, 5600 og 6000 Kr. aarlig.



Laboratoriets Tjeneste fra Maj 1875 og er ansat af Bestyrelsen fra 1. Oktober 1876 at regne. Til Forstander ved den fysiologiske Afdeling udnævnte Bestyrelsen, ligeledes fra 1. Oktober 1876 at regne, Hr. Cand. medicinæ Rasmus Pedersen, som havde været antaget ved Laboratoriet fra Juli 1876. Forstanderposten ved denne Afdeling er imidlertid for Øjeblikket ubesat, idet Hr. Pedersen atter fratraadte den ved Udgangen af 1877.

De fra Laboratoriet udgaaende Arbejder offenliggjøres i »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet«, hvoraf første Hefte her foreligger.


ARLSBER
13
9
12
18
17
100 Fod
20 mètres

Carlsbergfondet,

dets Stiftelse og Statuter.

Til

Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab.

Efterhaanden som der ved Naturforskernes Bestræbelser bibringes de Industridrivende flere Kundskaber og en bedre Indsigt i Naturlovene, voxer Erkjendelsen af disse Kundskabers Uundværlighed og dermed Trangen til at udvide dem, navnlig i de specielle Retninger, som have særlig Betydning for den enkelte Industrigreen.

Da det imidlertid ikke kan fordres eller ventes af de ved de offenlige Læreanstalter ansatte Videnskabsmænd, at de i videre Omfang kunne eller skulle fordybe sig i Undersøgelser af de mangfoldige Enkeltheder, hvorom de forskjellige Industrigrene, hver for sit Vedkommende, ønske Oplysning, har man i den senere Tid i flere Lande begyndt at oprette særegne Laboratorier eller saakaldte Forsøgsstationer, beregnede paa at forskaffe den vedkommende Industri fyldigere Kundskaber og en dybere gaaende Indsigt.

Disse Instituter have ganske vist, ogsaa for Bryggeriets Vedkommende, gjort ikke liden Nytte, men de lade dog i Regelen meget tilbage at ønske. De lide nemlig næsten alle af den Mangel, at deres Tilværelse er usikker og kun kan betragtes som noget Forbigaaende, hvilket medfører hyppig Vexlen af de derved beskjæftigede Videnskabsmænd, hvorved disses forberedende Studier og Arbeider gaae tabte, før de have kunnet bære Frugt. Som oftest er slige Instituters Opgave desuden stillet altfor begrændset,

saa at de ikke give Leilighed til yderligere at udvikle, ja, neppe til at bevare den almindelige, videnskabelige Dygtighed, som udfordres til deres Ledelse, og, omvendt, omfatter Opgaven undertiden formeget Andet, f. Ex. en meget elementair Underviisning — som i de saakaldte »Brauschulen« —, der ikke lader Tid og Ro tilovers til sand videnskabelig Forskning, ei at tale om et hyppigt Paahæng af reent industriel Virksomhed med Analyser efter Bestilling, Attesters Udstedelse o. desl.

Ledet af foranførte Betragtninger, har jeg i Forbindelse med mit Bryggeri Carlsberg oprettet et Laboratorium, bestemt til chemiske og physiologiske Undersøgelser og Studier i de Retninger af Naturvidenskaberne, som have særlig Betydning for Maltnings-, Brygnings- og Gjærings-Processerne, med det Formaal, ikke alene at give Bryggeri-Techniken det daglige Brød, men tillige at give de der beskjæftigede Videnskabsdyrkere Anledning og Midler til at uddanne sig og virke som Specialister i de Retninger, hvortil Bryggeri-Operationerne og de Phænomener, som disse frembyde, give særlig Leilighed og Opfordring.

Til at forestaae Arbeiderne i dette Laboratorium har jeg engageret Chemikeren Hr. Cand. polyt. Kjeldahl og Physiologen Hr. Cand. med. R. Pedersen. Senere vil der blive ansat Assistenter, som kunne staae Forstanderne bi, deels ved de Rækker af Observationer og Analyser, som nærmest blive at foretage i Technikens Interesse, deels ved de reent videnskabelige Laboratoriearbeider. Disse Assistenter ville saaledes faae Leilighed til, alt efter deres Anlæg og indre Kald, at uddanne sig til kyndige Technikere eller til videnskabelige Forskere.

Derimod har jeg meent, at Laboratoriet ikke bør gjøres til en Læreanstalt for Elever.

Da et saadant, for Specialstudier beregnet Institut imidlertid kun kan trives, naar det bæres af den Aand og gjennemtrænges af det Lys, som udgaaer fra Videnskaberne i det Hele, og da dette Lys for mig har været en Kilde til Lykke og Velvære, ligger det mig paa Hjerte, som et Afdrag paa min Gjæld, ogsaa at yde et Bidrag til Videnskabernes Fremme i Almindelighed, navnlig i de Retninger, hvori det forekommer mig, at Staten ikke hidtil har anvendt, og til hvilke den vel heller ikke i Fremtiden vil kunne afsee alle de fornødne Midler.

Jeg sigter herved til: midlertidige Honorarer for yngre Videnskabsmænd, hvis Begavelse og indre Kald gjøre dem særlig skikkede til senere at ansættes som Docenter; ligeledes til Honorarer eller Gager for Mænd, som ere fortrinligt udrustede til videnskabelig

Forskning og Forfattervirksomhed og som helst maatte kunne offre hele deres Kraft dertil, uden at hindres af Lærervirksomhed eller anden Embedsgjerning; fremdeles til Reisestipendier for ældre Videnskabsmænd, som enten paa gjentagne, kortere Besøg i Udlandet eller paa længere Reiser kunne høste et for den danske Videnskabelighed frugtbringende Udbytte; og endvidere til at fremme forskjellige videnskabelige Arbeider, saasom Undersøgelser og Besvarelser af Spørgsmaal, hvis Løsning til en given Tid er magtpaaliggende, osv.

Med dette udvidede Formaal for Øie har jeg idag stiftet et Fond — under Navn af »Carlsberg-Fondet« —, hvortil jeg har skjænket en Prioritet i min Eiendom Carlsberg (det oprindelige, saakaldte Gamle Carlsberg) paa 1 Million Kroner, som skal forrentes med 5 pCt. p. A., dog saaledes, at den fulde Renteydelse først indtræder ved min og Hustrues Død, og at der, saalænge nogen af os er i Live, ikkun erlægges en aarlig Rente af 2 pCt. Indtil videre vil Fondet saaledes kun erholde en aarlig Indtægt af 20,000 Kroner til de ovennævnte Formaals Fremme og først efter min og min Kones Død komme til at disponere over det fulde Rentebeløb af 50,000 Kroner.

For at en saadan Stiftelse imidlertid skal kunne virke efter sin Bestemmelse i Nutid og Fremtid, maa der sikkres den en vedvarende Bestyrelse af Mænd med videnskabelig Indsigt og Dygtighed, i hvilken Henseende Tanken med Nødvendighed maa fæste sig paa det Samfund, hvori den danske Videnskabelighed hidtil har fundet og sikkert altid vil finde sine ypperste Repræsentanter, og som hos os er den eneste Institution, der er saa heldig at staae uafhængig af alle fremmede, uvidenskabelige Hensyn og Indflydelser, nemlig det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab.

Til dette høitagtede Selskab tillader jeg mig derfor at henvende mig med Bøn om, at det, ved at vælge nogle Mænd af sin Midte til at vaage over den nævnte Stiftelse og til at lede dens Virksomhed, vil sikkre dens Bestaaen nu og i kommende Tider og sørge for, at den altid kan virke til Gavn for Videnskaben og til Ære for Danmark.

For at sætte Selskabet istand til at danne sig en tydeligere Forestilling om den nævnte Stiftelses Beskaffenhed og om Planen for dens Virksomhed vedlægger jeg Udkastet til Fondets Statuter, som tildeels ere affattede efter Samraad med D'hrr. Etatsraad Steenstrup og Professor Barfoed, hvis Velvillie og Interesse for Sagen jeg ikke nok kan paaskjønne.

I Haab om, at dette mit Foretagende maa vinde det ærede Selskabs Bifald, og at det vil skjænke det nye Institut den for dets Existents og Fremgang uundværlige Understøttelse, hvorom jeg herved andrager, tegner jeg mig

Med Høiagtelse og Ærbødighed

Carlsberg, d. 25de September 1876.

J. C. Jacobsen.
Brygger.

Statuter for „Carlsberg Fondet".

§ I. Til dette Fond er ved Fundats- og Gavebrev af 25de September 1876 skjænket en Kapital af 1 Million Kroner med Pant i min Eiendom »Carlsberg« bestaaende af Matr. Nr. 19 c., e., f., og g. og 20 c. i Valby med Bygninger, Inventarium og Have. Kapitalen bliver at forrente med 5 pCt. p. A., dog saaledes, at den fulde Renteydelse først indtræder ved min og Hustrues Død, og at der, saalænge nogen af os er i Live, ikkun erlægges en aarlig Rente af 2 pCt. eller i det Hele 20,000 Kroner.

§ II. Fondets Formaal ere:

A. at fortsætte og udvide Virksomheden i det af mig i 1875 oprettede chemiske og physiologiske »Carlsberg Laboratorium« i Overeensstemmelse med dette Instituts nedenfor angivne Opgave;

B. at fremme de forskjellige Naturvidenskaber, samt Mathematik, Philosophi, Historie og Sprogvidenskab paa de nedenfor anførte Maader.

§ III. Saalænge Fondets aarlige Indtægt indskrænker sig til det ovennævnte Beløb af 20,000 Kroner, vil dette, efter Fradrag af Administrationsudgifter, først og fremmest være at anvende til Bestridelse af de for Laboratoriets Virksomhed fornødne Udgifter. Hvad der ikke i hvert enkelt Aar maatte behøves til dette Brug, kan anvendes til det under § II. B. nævnte Formaal.

§ IV. Naar efter min og Hustrues Død den fulde Renteydelse af Capitalen indtræder, skal, ligeledes efter Fradrag af

Administrations-Udgifterne, Halvdelen af Fondets Indtægt forbeholdes til Brug for Laboratoriet (§ II. A.), og den anden Halvdeel til Formaalet B. (cfr. § II.). I Udredelsen af Administrations-Udgifterne tage A. og B. lige Deel.

Skulde der til sine Tider ikke behøves det hele Beløb af de til Formaalene A. eller B. henlagte aarlige Indtægter, oplægges Resten midlertidigt som Sparepenge til Brug for hvert især, efterhaanden som der bliver Trang dertil, eller til Benyttelse ved forestaaende større Foretagender.

Dersom det imidlertid skulde blive klart, at der i en nær Fremtid ikke vil blive Brug i den enkelte Afdeling for dens oplagte Sparepenge, kunne disse, naar Directionen ved en eenstemmig Beslutning vedtager det, anvendes til Bedste for den anden Afdeling.

§ V. Fondet bestyres af en Direction, bestaaende af 5 Medlemmer, valgte af det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab ud af dets egen Midte. Valget gjælder for 10 Aar. Hvert andet Aar afgaaer et Medlem, — i første Valgperiode efter Lodtrækning. Den Udtrædende kan gjenvælges. Afgaaer et Medlem før Valgperioden er udløben, indtræder den i hans Sted Valgte for Resten af den Afgangnes Functionstid. Directionen vælger af sin Midte en Formand hver Gang et ordinært Directeurvalg har fundet Sted. Den vedtager selv sin Forretningsorden.

§ VI. Til tre af Directionens Medlemmer overdrages det særlige Hverv, i Forbindelse med 1 eller 2 Tilforordnede, at danne Laboratoriets Bestyrelse. Disse tre Medlemmer skulle være Naturkyndige. Den eller de Tilforordnede vælges af Videnskabernes Selskab blandt Mænd udenfor sammes Midte, der enten som Bryggerikyndige eller af andre Grunde maae antages at have Kjendskab til og Interesse for det, der er Laboratoriets Opgave. De vælges paa 5 Aar og kunne gjenvælges.

Laboratoriebestyrelsen vedtager selv sin Forretningsorden og vælger sin Formand, som forbliver i denne Stilling, indtil hans Functionstid som Directeur er udløben.

§ VII. Directionens Medlemmer oppebære hvert et aarligt Honorar af 400 Kroner. De tre Laboratoriebestyrere erholde desuden hver et Tillæg af 300 Kroner. Hver af Formandsposterne honoreres med 200 Kroner. De Tilforordnede honoreres hver med 300 Kroner.

§ VIII. Carlsberg-Laboratoriets Opgave skal være, ved selvstændige Undersøgelser at prøve de Lærdomme, som Videnskaben allerede har tilveiebragt, og at udvikle dem ved fortsatte Studier til et muligst fuldstændigt videnskabeligt Grundlag for Maltnings-, Brygnings- og Gjærings-Operationerne.

Ved Ansættelse af Assistenter bør der virkes for, at der efterhaanden kan uddannes flere Forskere i de derhen hørende Grene af Chemien og Physiologien.

Til de Arbeider, hvormed Laboratoriet bør beskjæftige sig, kan for Tiden henregnes:

a. Undersøgelser, saavel chemiske som physiologiske, af de til Brygning anvendelige Sædarter, særlig af Bygget og dets Varieteter, samt af Grunden til disses forskjellige Egenskaber, saasom Klima, Jordbund, Dyrkningsmaade, Modningsgrad, o. s. v.;

b. Lignende Undersøgelser af Humlen og Udforskning af Methoder til at bestemme dens virksomme Bestanddele, samt Undersøgelser af disse Stoffers Forhold og Virkemaade under Brygningen og Gjæringen;

c. Et grundigt Studium af de i Sædarterne værende Stoffer, navnlig Meelstof og dets Overgangsformer, Dextrin, Sukker, m. fl., samt Æggehvidestofferne og disse Stoffers Forhold og Omdannelser under Brygningsoperationerne, saasom:

under Maltningen (Udblødningen, Spiringen og Kølletørringen) og ved Anvendelsen af forskjellige Methoder;

under Mæskningen og Kogningen (Infusions- og Decoctions-Methoder, Kogning ved directe Ild, ved Damp, under Tryk, o. s. v.);

under Nedsvalingen (den atmosphæriske Lufts Indflydelse, modsatte Systemer, Baudelots og Pasteurs, o. s. v.);

under Gjæringen i Forhold til de forskjellige Maltnings- og Brygningsmethoder;

d. Undersøgelser og Studier af Gjærplanten, dens Udvikling, Væsen og Virksomhed under forskjellige Betingelser og i de forskjellige Stadier, samt Luftens, Lysets, Varmens og Electricitetens Indflydelse derpaa m. m.;

e. Undersøgelser over de andre under Gjæringen optrædende Fermenter, Melkesyre-, Eddikesyre-, Smørsyre-Fermenter, m. fl.;
f. Undersøgelser af det færdige Product, Øllet, dets Egenskaber og Betingelserne for dets Smag, Holdbarhed, Forædling, o. s. v.;
g. Undersøgelser af Grundene til de stundom indtrædende Uregelmæssigheder i Brygningsoperationerne og i det Hele Studier til Forklaring af alle særegne Phænomener;
h. Prøvelse af de af andre Naturforskere meddeelte Iagttagelser og Opdagelser og af de derpaa byggede Hypotheser og Theorier.

De vundne Resultater offenliggjøres i inden- og udenlandske Tidsskrifter eller paa anden Maade, deels som offenlig Redegjørelse for Institutets Virksomhed, deels ligeoverfor Udlandet som et Vidnesbyrd om, at der fra dansk Side tages hæderlig Deel i Videnskabens Udvikling i de Retninger, hvorom her er Tale. Intet Resultat af Institutets Virksomhed, som har Betydning i theoretisk eller praktisk Henseende, maa hemmeligholdes.

Det maa betragtes som en Selvfølge, at de Mænd, som forestaae Laboratoriet, ved Siden af deres Arbeider i Institutets specielle Retning, maae stræbe at bevare og udvikle deres videnskabelige Dygtighed i Almindelighed ved andre Studier og Undersøgelser, dog saaledes, at Institutets Hovedopgave ikke tilsidesættes eller tabes af Sigte.

Forsaavidt de disponible Midler strække til, og Bestyrelsen finder det hensigtsmæssigt, bør der fra Tid til anden gives Forstanderne Leilighed til ved Reiser at knytte personlig Forbindelse med Naturforskere i andre Lande, som virke i lignende Retning, og at gjøre sig bekjendte med tilsvarende Instituter i Udlandet og deres Arbeider.

Institutet maa ikke paatage sig at virke som en »Bryggerskole« for Elever uden videnskabelig Fordannelse, ei heller foretage Analyser for eller udstede Attester til Uvedkommende.

§ IX. Den til Videnskabernes Fremme i Almindelighed bestemte Sum (cfr. §§ II. B., III. og IV.) skal fortrinsviis anvendes til:

a. Reisestipendier for ældre Videnskabsmænd paa indtil 3,000 Kroner, enten til gjentagne kortere Besøg i Udlandet, eller til længere Reiser;

b. Midlertidige Honorarer til yngre Videnskabsmænd, hvis Begavelse og indre Kald gjøre dem særlig skikkede til senere at indtræde i offenlig Virksomhed;
c. Lønninger for Livstid eller for visse Aar til udmærkede Mænd, som kunne virke heldigt som »frie Videnskabsmænd« udenfor en offenlig Stilling;
d. Stipendier eller Honorarer paa indtil 2000 Kroner for specielle Studier eller Undersøgelser;
e. Bidrag til videnskabelige Arbeiders Fremme.

Foranførte Bestemmelser gjælde baade for Medlemmer og for Ikke-Medlemmer af Videnskabernes Selskab og ligesaa for videnskabelige Arbeider i og udenfor Selskabet.

§ X. Directionen forvalter Fondets Midler. Den foranstalter under sin Kontrol dets Kasse- og Regnskabsvæsen besørget ved en dertil antaget, lønnet Regnskabsfører, hvis Regnskab revideres af 2 Directeurer. Decision og Qvittance gives af den samlede Direction.

Den vedtager det aarlige Budget og tager Beslutning om Anvendelsen af den til forskjellige Videnskabers Fremme bestemte Sum i Henhold til § IX.

Den meddeler Selskabet en aarlig Beretning om Fondets Anvendelse og om Laboratoriets Virksomhed, samt Oversigt over Fondets Indtægt, Udgift og Status.

Den gjør Indstilling til Selskabet om Valget af Tilforordnede til Laboratoriebestyrelsen.

§ XI. Laboratoriebestyrelsen varetager Alt, hvad der angaaer det særlige Overtilsyn med Laboratoriets Virksomhed, dets Lokaler, Inventarium o. s. v.

Den ansætter Laboratoriets Forstandere, hvilken Ansættelse fra begge Sider kan opsiges med 1 Aars Varsel.

Den antager efter Forhandling med Forstanderne de fornødne Assistenter paa tre Maaneders Opsigelse.

Som Laboratorieforstandernes Foresatte vaager den over, at den statutmæssige Plan for Laboratoriets Virksomhed følges. Uden at gribe ind i Forstandernes selvstændige videnskabelige Virksomhed, forhandler den med dem om Udførelsen af saadanne Arbeider, som kunne kaste et videnskabeligt Lys over specielle Operationer i Bryggeriet o. s. v.

Den affatter Forslag til det aarlige Budget for Laboratoriet og vaager over dets Overholdelse.

Den gjør Forslag til Directionen om extraordinære Foranstaltninger udenfor det ordinære Budget og om Anvendelsen af de for Laboratoriets Vedkommende oplagte Sparepenge.

§ XII. Laboratorieforstanderne skulle ved Iagttagelser og Undersøgelser, hvortil Operationerne i Bryggeriet give Anledning, samt ved Studier og Arbeider i Laboratoriet uddanne sig i de særlige Retninger af Videnskaben, som have Betydning for Ølbrygningen.

De skulle aarlig meddele Bestyrelsen en udførlig Rapport over de udførte Arbeider. De Meddelelser herom, som Bestyrelsen finder det hensigtsmæssigt at offenliggjøre, skulle de udarbeide i en dertil egnet Form. Medfører Udgivelsen Udgifter, afholdes disse af Laboratoriets Budget, men giver den Indtægt, tilfalder denne Forfatteren.

Saalænge de ere i Laboratoriets Tjeneste, maae de ikke paatage sig at være Consulenter for Andre og ei heller befatte sig med anden Virksomhed for egen Regning eller for Private. Uden Bestyrelsens Samtykke maae de heller ikke paatage sig nogen offenlig Virksomhed, og dersom Bestyrelsen maatte finde en saadan ønskelig og forenelig med Laboratoriets Tarv, kan Bestyrelsen betinge Samtykket af en forholdsmæssig Afkortning i den aarlige Gage.

De maae ikke modtage Valg til Rigsdagen.

De antage og afskedige de underordnede Betjente og vaage over god Orden i Laboratoriet.

De besørge Anvendelsen af de budgetterede Summer, som stilles til deres Raadighed til løbende Udgifter og aflægge Regnskab derfor til Bestyrelsen.

§ XIII. Laboratorieforstanderne lønnes mindst lige med Universitetsprofessorer paa samme Alderstrin, men ere ikke pensionsberettigede. Under særlige Omstændigheder kan Directionen dog, efter Bestyrelsens Indstilling, tilstaae dem en midlertidig eller livsvarig Understøttelse af Laboratoriets Konto.

§ XIV. Om Forandring i Statuterne.

Naar Directionen i Tidens Løb finder det nødvendigt, at disse Statuter forandres, maa den gjøre Indstilling til Videnskabernes Selskab om de Forandringer, hvorom samtlige

Medlemmer af Directionen ere enige, og Selskabet tager da Beslutning om de indstillede Forandringer. Dersom Selskabet foreslaaer Ændringer i Directionens Indstilling, kunne disse Ændringer først komme til Afstemning i et nyt Møde 4 Uger efter, at Directionen har meddeelt Selskabet, at den med Eenstemmighed har tiltraadt Ændringsforslagene.

Carlsberg - Laboratoriets Formaal (§ VIII) maa dog ingensinde opgives, og dette Institut maa aldrig skilles fra Eiendommen »Carlsberg«, saalænge der i samme drives Bryggeri; ei heller maa Laboratoriet nogensinde sammensmeltes med noget andet Institut.

Carlsberg, den 25de September 1876.

J. C. Jacobsen.

Undersøgelser

over

I. Ølurts Drejningsevne for plansat Lys og dens Forandring under Gjæringen;
II. Extraktbestemmelser;
III. Vinaandbestemmelser.

Anstillede i Carlsberg Laboratoriets kemiske Afdeling

af

J. Kjeldahl.

I.

Om Ølurts Drejningsevne for plansat Lys og dens Forandring under Gjæringen.

Paa Grund af Ølurtens og Øllets Indhold af Dextrin og Sukker have disse Vædsker en betydelig Drejningsevne for plansat Lys. Da Ølurt, naar den ved Gjæringen forvandles til Øl, lider en gjennemgribende Forandring i sin Sammensætning, i Særdeleshed netop med Hensyn til dem af dens Bestanddele, der ere begavede med Drejningsevne, stod det til at vente, at denne Forandring maatte gjenfindes ved en Sammenligning af Drejningsevnen for Øl med den for Urt, idet den til hver Procent Extrakt i de to Vædsker svarende Drejning*) maatte blive væsentlig forskjellig. Betragte vi en Ølurt, som indeholder 13 Volumenprocent Extrakt**), vil dette efter den ældre Udtydning af Analyserne i Gjennemsnit svare til 6 % Sukker, 6 % Dextrin og 1 % andre Stoffer. Ved Gjæringen giver Urten et Øl, der maaske indeholder 5 % Extrakt, deraf 1 % Sukker, $3^1/_2$ % Dextrin og $^1/_2$ % andre Stoffer. Naar Drejningsevnen for rent Druesukker og Dextrin var bekjendt, maatte man altsaa af Urtens og Øllets Sammensætning kunne beregne den dem tilkommende Drejning.

---

*) Den vil i denne Afhandling for Kortheds Skyld blive kaldt den specifiske Drejning, skjøndt denne Betegnelse ellers bruges i en anden Betydning.

**) Ved en Volumenprocent betegnes her og i det Følgende et Indhold af 1 Grm. i 100 Kub. Centimeter.

Da de Angivelser, der fandtes over Drejningsevnen af de nævnte Stoffer, imidlertid vare særdeles indbyrdes afvigende, maatte jeg først fremstille de rene Stoffer og undersøge dem i Polarimetret. Druesukkeret blev fremstillet efter Schwarz's Methode af Rørsukker, der i meget fint pulveriseret Tilstand opløstes i saltsyreholdig Vinaand paa 80 %. Efter kort Tid udkrystalliserede Druesukkeret. Det blev en Gang omkrystalliseret af stærk Vinaand og tilsidst en Gang af Vand. Ved Titrering med Fehlings Vædske gav det i to Analyser 99,6 % og 100,2 % for 100 %. I Opløsninger paa 6—12 % bevirkede det i et 200 Millimeter langt Rør en Drejning paa 4,9° Soleil for 1 Gram i 100 Kub. Centimeter.

Rent Dextrin blev tilberedt af Kartoffelstivelse, der efter at være kogt til Klister behandledes med et Koldtvands-Udtræk af Malt ved omtrent 75°. Efter Opløsning blev Vædsken filtreret, indkogt til et lille Rumfang, fældet med Vinaand, og Bundfaldet paany opløst i Vand. Denne Opløsning blev, til Fjernelse af fosforsure Salte fra Maltudtrækket, fældet med eddikesurt Blyilte, filtreret, fældet med Svovlbrinte, paany filtreret, og Svovlbrinten udkogt af Filtratet, som derefter paany fældedes med Vinaand. Bundfaldet opløstes atter, fældedes paany, og denne Behandling gjentoges, indtil Opløsningen ikke mere gav Reaktion med eddikesurt Kobberilte med lidt fri Eddikesyre (Barfoeds Reagens paa Druesukker ved Siden af Dextrin). Af det saaledes fremstillede Dextrin, der var hvidt og fuldstændig lugtfrit, blev en Prøve efter Tørring ved 100° opløst i Vand, og Opløsningen inverteret til Druesukker ved Opvarmning med lidt fortyndet Svovlsyre i tilsmeltede Glas ved 110° i 6 Timer; ved Titreringen fandtes 98,8 % istedetfor 100 %.

Som paavist af Prof. Barfoed, giver saadant Dextrin vedblivende Reaktion med Fehlings Vædske, om end langt svagere, end Druesukker. En Titrering af Druesukker og Dextrin ved Siden af hinanden med Fehlings Vædske er derfor heller ikke nøjagtig, endskjøndt dette hyppig angives. For at kunne bedømme de ved en Analyse rimeligvis indløbende Fejl, tilberedte jeg flere Blandinger af det paa ovennævnte Maade fremstillede Druesukker og Dextrin, nemlig dels i saadanne Forhold, hvori de antages at forekomme i Ølurt, nemlig 1 Sukker : 1 Dextrin, dels i Forhold som i Ølextrakt, nemlig 1 Sukker : 3—4 Dextrin. Som det kunde formodes, fik man i Blandinger af første Slags de største Fejl, der ved Titreringer, der trak noget længe ud (15—20 Minuter), kunde bevirke, at man fandt 13 Sukker istedetfor 10. Titreringen var i det hele taget vanskelig at foretage, da Reaktionen aldrig blev skarpt afsluttet.

Imidlertid maa bemærkes, at det i Ølurt og i Øl forekommende Dextrin synes at vise et andet Forhold i denne Henseende, da man her fik en fuldstændig skarp Reaktion og fandt lige meget Sukker, hvad enten Titreringen foretoges hurtigt eller langsomt. Ligeledes viste det sig, at, naar man tilsatte et vilkaarligt Overskud af Kobbervædsken og efter kortvarig Kogning filtrerede den blaa Vædske fra det udskilte Kobberforilte, kunde den koges, saa længe det skulde være, uden at der afsattes nyt Bundfald, eller i det høieste kun et meget svagt, som ogsaa Fehlings Vædske for sig kan give ved lang Kogning.

Iagttagelser med 3 Opløsninger, som indeholdt omtrent 4, 6 og 8 % af dette Dextrin, gave som Gjennemsnit en Drejning af $16{,}1^0$ Soleil for hvert Gram i 100 Kub. Centimeter.

Da nu Øllet er forholdsvis langt rigere paa Dextrin, og dettes Drejningsevne er over 3 Gange saa stor som Druesukkerets, saa var det at vente, at den specifiske Drejning af Ølextraktet vilde vise sig langt betydeligere end Urtextraktets. Lægges de fundne Tal $4{,}9$ og $16{,}1$ til Grund for Beregningen af den ovenfor omtalte Urts Drejningsevne, vilde man for Urten faa 126^0 Sol. og for det deraf opstaaede Øl 61^0 Sol., altsaa for Urtextraktet en specifisk Drejning af $126 : 13 = 9{,}7^0$ Sol., for Ølextraktet derimod af $61 : 5 = 12{,}2^0$ Sol. Nu viste imidlertid Iagttagelserne for Urten 145^0 Sol., eller en specifisk Drejning af $11{,}1^0$ Sol., for Øllet 56^0 Sol., eller en specifisk Drejning af $11{,}2^0$ Sol. Man ser altsaa, dels at de fundne Tal ikke stemme med de beregnede, dels, hvad der, dengang jeg i Vinteren 1875—76 første Gang beskjæftigede mig med dette Spørgsmaal, var mig det mest paafaldende, at den specifiske Drejning for Øl og Urt er meget lidt forskjellig. I hvert Fald bevistes ved dette Forhold, at den ved Mæskningen dannede Sukkerart, der underkastes Gjæring i Bryggerierne, maatte være væsentlig forskjellig fra almindeligt Druesukker.

Efter at jeg foreløbig havde lagt denne Sag tilside, fremkom der nærmere Beretninger om den nye Sukkerart, Maltose, der er Produktet af Diastasets Indvirkning paa Stivelse. Som bekjendt, udmærker denne Sukkerart sig navnlig ved sin fra Druesukkerets forskjellige Reduktionsevne af alkaliske Kobberopløsninger, som kun er $^2/_3$ af almindeligt Druesukkers, og dernæst ved sin stærke Drejningsevne, som er mere end dobbelt saa stor som Rørsukkerets og henved 3 Gange saa stor som Druesukkerets. Herved kunde man forklare sig, at den specifiske Drejning ikke forandres meget ved Urtens Overgang til Øl. Efter de foreliggende Elementæranalyser af Maltose er dets Sammensætning lig med Rørsukkerets $C^{12}\ H^{22}\ O^{11}$; det kry-

stalliserer med 1 Molekyl Vand, der gaar bort ved Tørring ved 100°. Ved Gjæringen optager det 1 Molekyl Vand og giver derfor ligesom Rørsukker 51 % af sin Vægt Vinaand, medens Druesukker kun giver 49 %. Dets fra Druesukker forskjellige Reduktionsevne i Forbindelse med dets forskjellige elementære Sammensætning giver Anledning til, at det af tidligere Analyser udledede Forhold mellem Sukker og Dextrin i Opløsninger, som ere fremstillede ved Maltudtræks Indvirkning paa Stivelse, bliver et ganske andet, ligesom ogsaa Summen af de to Stoffer bliver noget mindre. For det første maa alle Tallene for Druesukker forøges med 50 %, naar de skulle udtrykke Maltose, idet 10 Kub. Centimeter Fehlings Vædske svarer til 0,050 Grm. Druesukker, men til 0,075 Grm. Maltose. Dernæst kan Dextrinmængden ikke bestemmes paa samme Maade som før, nemlig ved Inversion til Druesukker (ved Opvarmning med fortyndet Svovlsyre i tilsmeltet Rør ved 110° i sex Timer), Bestemmelse af den hele Mængde Druesukker i den saaledes behandlede Vædske, Subtraktion af det oprindeligt tilstedeværende Druesukker og Multiplikation af Resten med 0,9. Thi Maltose gaar ogsaa ved Inversionen over til Druesukker, og da det derved optager 1 Molekyl Vand, er det ikke det forud bestemte Maltose, men dette multipliceret med 1,05, som skal subtraheres, for at give den Mængde Druesukker, hvoraf Dextrinmængden skal beregnes ved Multiplikation med 0,9. Man ilede derfor ogsaa med at omregne de foreliggende ældre Analyser paa denne Maade, og opførte nu Urtens Kulhydrater som »Maltose og Dextrin« istedetfor »Druesukker og Dextrin«. Resultatet af en saadan Omregning for den ovennævnte Urts Vedkommende bliver, at den kommer til at indeholde 9 % Maltose og 2,9 % Dextrin, og det deraf dannede Øl 1,5 % Maltose og 2,9 % Dextrin. Dextrinmængden i Øllet skulde altsaa netop være den samme som i Urten, og de 8 %, der forsvandt under Gjæringen, skulde væsentlig bestaa af »Maltose«.

For at bidrage noget til at klare disse Spørgsmaal, besluttede jeg at gjenoptage mine tidligere Forsøg og det paa den Maade, at jeg forfulgte den gradvise Aftagen af Extrakt og Drejningsevne under Gjæringen paa dens forskjellige Stadier. I nedenstaaende Tavler har jeg sammenstillet nogle af de Iagttagelsesrækker, som jeg har gennemført. Angaaende Forsøgsmethoden skal bemærkes, at Extraktet er bestemt ved Indtørring af Analysen paa rent Sand ved 100° (se den efterfølgende Afhandling), og at alle Prøverne ere underkastede lige lang Opvarmning, nemlig 20 Timer; hvorvel Udtørringen ikke bliver aldeles fuldstændig i den Tid, har dette dog ingen kjendelig Indflydelse her, hvor det navnlig kun har

Interesse at erfare Differenserne i Extraktmængden fra Dag til Dag. Bestemmelsen af Drejningsevnen er udført med et Soleils Saccharimeter af Dubosque i Paris, ved hvilket Grænsen for den Fejl, jeg kunde begaa ved Aflæsningen, var omtrent 0,4° Sol. Til et Forsøg toges 50 Kub. Cent. Vædske, filtreret klar, dertil sattes 50 Kub. Cent. Vand og 5 Kub. Cent. af en Opløsning af basisk eddikesurt Blyilte; den var da efter Filtration klar og af en svag lysegul Farve; de aflæste Tal multipliceredes med 2,1. Nogle Forsøg, der gjordes med Anvendelse af Benkul til Affarvning, gave paa det nærmeste det samme Resultat.

De undersøgte Vædskers Vægtfylde bestemtes ved Flydevægten; ved Multiplikation heraf med den ad direkte Vej fundne Extraktmængde fik man Extraktet udtrykt i Volumenprocent, som er dem, der ved Drejningsforsøgene komme i Regning.

Prøverne udtoges af Gjæringskarrene i Bryggeriet.

Gjæringskar Nr. 73.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
21 April.	13,48	148	•	•	•
24 •	12,22	137	1,26	11	8,7
28 •	9,06	105,5	3,16	31,5	10,0
1 Maj.	7,50	87	1,56	18,5	11,9

Gjæringskar Nr. 77.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
21 April.	13,65	149	•	•	•
24 •	12,36	139	1,29	10	7,8
28 •	9,03	106	3,33	33	9,9
1 Maj.	7,50	87	1,53	19	12,4

Gjæringskar Nr. 80.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
21 April.	13,46	149	•	•	•
24 •	12,31	139	1,15	10	8,7
28 •	8,83	104	3,48	35	10,0
1 Maj.	7,10	84.	1,73	20	11,6

Gjæringskar Nr. 84.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
21 April.	13,44	148	•	•	•
24 •	12,44	140	1,00	8	8,0
28 •	9,46	112,5	2,98	27,5	9,2
1 Maj.	7,81	91,5	1,65	21	12,7

Gjæringskar Nr. 58.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
25 April.	16,15	176	•	•	•
29 •	12,87	150	3,28	26	7,9
3 Maj.	9,36	110	3,51	40	11,4
6 •	8,12	95	1,24	15	12,1

Gjæringskar Nr. 61.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
25 April.	16,25	177,5	•	•	•
29 •	13,93	159	2,32	18,5	8,0
3 Maj.	11,25	133,5	2,68	25,5	9,5
6 •	9,94	117	1,31	16,5	12,6

Gjæringskar Nr. 64.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
25 April.	15,91	175	•	•	•
29 •	13,38	154	2,53	21	8,3
3 Maj.	10,32	122,5	3,06	31,5	10,3
6 •	9,16	109,5	1,16	13	11,2

Gjæringskar Nr. 11.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Grader Soleil.	Aftaget Grader Soleil pr. 1 Vol.-procent.
26 April.	13,42	145,5	•	•	•
30 •	10,61	123,5	2,81	22	7,8
4 Maj.	7,55	87	3,06	36,5	11,9

Gjæringskar Nr. 15.

Dato.	Volumenprocent Extrakt.	Grader Soleil.	Differens i Vol.procent.	Differens i Gr. Soleil.	Aftaget Gr. Soleil pr. 1 Vol.procent.
26 April.	13,44	150	»	»	»
30 »	11,10	130	2,34	20	8,6
4 Maj.	7,76	93	3,34	37	11,1

Beregnes Drejningen pr. Volumenprocent af Extraktresten, eller hvad jeg har kaldt Extraktrestens specifiske Drejning, saa findes følgende Værdier:

Karrets Nr.	Efter 0	4	8	10 Dages Gjæring.
73	11,0	11,2	11,6	11,6
77	10,9	11,2	11,7	11,6
80	11,1	11,3	11,8	11,8
84	11,1	11,3	11,9	11,7

Karrets Nr.	Efter 0	4	8	11 Dages Gjæring.
58	10,9	11,7	11,8	11,7
61	10,9	11,5	11,9	11,8
64	11,0	11,5	11,9	11,9

Karrets Nr.	Efter 0	4	8 Dages Gjæring.
11	10,9	11,6	11,5
15	11,1	11,7	12,0

Det ses heraf, at Extraktrestens specifiske Drejning har et Maximum, som indtræder efter omtrent 8 Dages Gjæring. Derfra finder en langsom Formindskelse Sted, som navnlig bliver fremtrædende, naar man forfølger Forholdet under Øllets Lagring. En Prøve, optaget efter 3 Dages Lagring, viser 5,88 % Extraktrest og en Drejning af 68° Sol., altsaa en specifisk Drejning af 11,6° Sol.; en anden, optaget efter 18 Dages Lagring, viser 5,45 % Ekstraktrest og en Drejning af 61,5° Sol., altsaa en specifisk Drejning af 11,3° Sol. Endelig viser det bouteillerede Øl 5,0 Vol.% Extrakt og en Drejning af 56° Sol., eller den specifiske Drejning er nu sunken til 11,2° Sol., altsaa bleven lig med Urtens. Grunden til dette Forhold, der tidligere forekom saa besynderligt, er nu ganske klar. Den specifiske Drejning vil stige under Gjæringen, fordi de svagest drejende Stoffer først gjære bort; den vil synke, fordi Extraktresten bliver forholdsvis fattigere paa de Stoffer, der i det hele taget

dreje. I den første Del af Gjæringen har den første Aarsag Overhaand, i Slutningen den sidste, tilsammen ophæve de hinanden.

Det Extrakt, som forsvinder under Gjæringen, bestaar væsentlig af Kulhydrater, og den Mængde af Æggehvidestoffer, Humlebestanddele osv., som udskilles, er i Sammenligning dermed meget ringe. Naar man derfor kunde have bestemt Sukkermængderne i de undersøgte Vædsker og indført dem i Rubriken for Extraktprocenterne, vilde Differenserne i 3die Kolonne være forblevne temmelig uforandrede. Tallene i sidste Kolonne, der angive Drejningsevnen af 1 forsvunden Extraktprocent, vilde da ogsaa paa det nærmeste vise Drejningsevnen af 1 forsvunden Sukkerprocent. For at faa et Skjøn over den Mængde af Protëinstoffer, som udskilles, har jeg bestemt Mængden af dem i en Exportølurt før og efter Hovedgjæringen (ved Elementæranalyse af Kvælstofmængden):

Før Hovedgjæringen: 16,5 Vol. % Extrakt,
heri 4,1 % Protëinstoffer .... = 0,68 Vol.% af Urten.
Efter Hovedgjæringen: 9,3 % Extrakt, heri
5,2 % Protëinstoffer .... = 0,48 Vol.% af Øllet.
Udskilt under Gjæringen = 0,20 Vol.%.

(I bouteilleret Carlsberg Beer fandtes 6,1 Vol. % Extrakt med 6,9 % Protëinstoffer, i Tuborg Øl 5,9 Vol.% Extrakt med 9,3 % Protëinstoffer).

Ved Betragtning af Tavlerne bliver det indlysende, at det ingenlunde er en og samme Sukkerart, der omdannes til Vinaand og Kulsyre under Gjæringen, hvad enten det nu skulde være Druesukker eller Maltose. Det ses, at de Kulhydrater, som gjære bort i Begyndelsen, have en Drejningsevne, som ligger betydeligt under Maltosets, og at de, som forsvinde henimod Slutningen af Hovedgjæringen, i Drejningsevne omtrent stemme overens med Maltoset. Endelig synes Forsøg, som jeg har anstillet under Eftergjæringen i Lagerkjælderne, at vise, at der under den forsvinder Kulhydrater med endnu større Drejningsevne (specifisk Drejning 14—15° Sol.); dog ere Differenserne i Saccharometergraderne her saa smaa, at Iagttagelsesfejlene ved det af mig benyttede Instrument blive for store til at faa et tilstrækkelig nøjagtigt Resultat. Muligt er det, at de første ere Blandinger af Maltose og Druesukker, og de sidste af Maltose og Dextrin, men det er ogsaa muligt, hvad Kühnemanns og O'Sullivans nyere Undersøgelser antyde, at vi i Urten have en hel Række af Kulhydrater, hvilke da, som her vist, gjære desto tidligere bort, jo svagere Drejningsevne de besidde.

De senere Aars Forskninger paa Omraadet af Kulhydraternes Kemi have paavist et ikke ringe Antal af forskjellige Stoffer,

som staa Glykoset nær og derfor tidligere ere henførte til dette. Det synes da, at vi ogsaa paa det her omtalte Punkt staa overfor en meget sammensat Blanding af Stoffer, hvor man før har troet kun at have at gøre med et enkelt. At bringe fuld Klarhed over alle disse Stoffers Forhold og at paavise den ejendommelige Rolle, som ethvert af dem spiller under Gjæringsprocessen, hører utvivlsomt til de meget vanskelige Opgaver, og der vil til deres Løsning udkræves lang Tids Forskning fra forskjellige Sider. I de ovenstaaende Undersøgelser har jeg forsøgt at give et lille Bidrag hertil; jeg har desuden beskjæftiget mig en Del med andre Sider af disse Spørgsmaal, og jeg er derved stødt paa Forhold, der ved nærmere Undersøgelse turde give interessante Oplysninger derom, men da jeg ikke har kunnet forelægge disse Iagttagelser som noget Afsluttet, har jeg foretrukket ikke at medtage dem her, men forbeholder mig senere at fremlægge en Beretning derom.

II.

Om Extraktbestemmelser.

Balling angiver i sin »Gährungschemie« II, Side 35, at Opløsninger af Maltextrakt og Rørsukker have samme Vægtfylde, naar de indeholde ligemange Procenter Tørstof. Han tilføjer, at denne Sætning støtter sig paa talrige og nøjagtige Forsøg, uden dog at give nogen nærmere Oplysning om Maaden, hvorpaa Forsøgene ere anstillede. Han omtaler blot paa næste Side kortelig, at man kan fremstille det tørre Extrakt ved at afdampe Urten paa Vandbad til Tørhed og derefter opvarme det nogle Grader over 100, at man altsaa paa denne Maade kan faa Oplysning om den absolute Mængde af Tørstof i en given Urt, men han tilføjer, at denne Fremgangsmaade er besværlig og tidsspildende.

Balling udarbejdede nu Tabeller over Vægtfylden af Rørsukkeropløsninger, hvoraf den ene omfatter Sukkeropløsninger med indtil 19,272 % Sukker. I denne Tabel findes Vægtfylderne angivne med 4 Decimaler, og ligeoverfor findes de tilsvarende Sukkerprocenter; Forskjellen mellem to paa hinanden følgende Vægtfylder er 1 Enhed i fjerde Decimal. I den anden Tabel angives Vægtfylden af Sukkeropløsninger fra 0 til 75 % med 5 % Mellemrum. Vægtfylden tiltager noget stærkere end Sukkerprocenterne, saaledes at, naar Vægtfylderne afsættes som Abscisser, og Sukkerprocenterne som Ordinater, komme disse til at danne en Kurve, der vender Konkaviteten

mod Abscisseaxen. Naar Vægtfylderne ere større end 1,0832, er deres Differensers Differens fra 5 til 5 % konstant = 0,0009; saaledes er for Opløsninger paa:

			Differens.	Differensers Differens.
20 % Vægtfylden	=	1,0832		
25 % —	=	1,1059	0,0227	
30 % —	=	1,1295	0,0236	0,0009
35 % —	=	1,1540	0,0245	0,0009
40 % —	=	1,1794	0,0254	0,0009

osv. Den til en vis Koncentration paa over 20 % svarende Vægtfylde, S, kan da fremstilles ved den empiriske Formel:

$$S_{20+n} = 1{,}0832 + n \,.\, 0{,}00436 + (5 + n)\, n \,.\, 0{,}000018.$$

Under 20 % finder en slig Regelmæssighed ikke Sted.

Paa Grundlag af disse Tabeller udarbejdede Balling den sindrige Attenuationslære eller Læren om Forholdet mellem Vægtfylden af en Vædske, der underkastes den vinaandige Gjæring, og denne Vædskes Indhold af Vinaand og Extrakt, samt dens Forgjæringsgrad. Han udarbejdede herefter den saakaldte saccharometriske Ølanalyse, der, som bekjendt, beror paa to Vægtfyldebestemmelser, en af det foreliggende Øl, og en af det til omtrent Halvdelen indkogte og atter til samme Vægt med Vand fortyndede Øl (»det kogte Øl«). Af disse to Data beregner han nu saavel Øllets Indhold af Vinaand og Extrakt som Styrken af den Urt, hvoraf det er fremstillet, og finder atter heraf Forgjæringsgraden. I den nyeste Tid har man imidlertid almindelig forladt Ballings Beregningsmaade af Vinaandmængden og, med Bibeholdelse af den samme Undersøgelsesmethode (de to Vægtfyldebestemmelser), indført andre »Alkoholformler«, der give et med de direkte Bestemmelser nærmere stemmende Resultat. Det har paa dette Punkt været let at kontrollere Rigtigheden af det Ballingske Princip, og i den efterfølgende Afhandling vil man kunne se, hvilke Afvigelser fra det Rigtige det kan give Anledning til; de ere ikke meget betydelige. Derimod benyttes fremdeles de Ballingske Tabeller til Bedømmelse af Extraktmængden, og de have saaledes faaet en overordentlig udstrakt Anvendelse og Betydning i Bryggeriet, saavel ved de daglige Undersøgelser over Driftens Gang som ved de zymotekniske Analyser, ved Maltextraktbestemmelser, Ølanalyser osv. Det af Balling konstruerede Saccharometer, der angiver Procenter af Rørsukker, har efterhaanden fortrængt det ældre Kaiserske (16 % Blg. = 15 % K.). Grunden hertil er vel navnlig den, at det Ballingske Saccharometer er afstemt efter Op-

løsninger, som det er en let Sag at fremstille af den bestemte Styrke, og at man altsaa kan kontrollere Instrumentets Rigtighed, medens det Kaiserske, der direkte skulde angive Procenter af Maltextrakt, maatte forfærdiges efter nogle Normal-Apparater, saa at det blev umuligt for Bryggerne, selv at forvisse sig om dets Nøjagtighed. Da det i Praxis har langt større Betydning, at Resultaterne ere indbyrdes overensstemmende, end at de ere absolut nøjagtige, bekymrede man sig længe ikke om, hvorvidt det Ballingske Saccharometer angav den sande Extraktmængde eller ikke.

For at danne mig en Forestilling om Anvendeligheden af Tabellerne for Ølextrakt og Urt, har jeg for længere Tid siden anstillet flere Forsøgsrækker, som jeg vil kalde Fortyndingsforsøg. Det er nemlig klart, at, naar en Urt, der indeholder 12 % Extrakt, fortyndes med Vand til den dobbelte, 3-dobbelte, 4-dobbelte osv. Vægt, maa man faa en Urt paa 6, 4, 3 osv. Procent. Naar altsaa en Urt, som viser 12 % paa det Ballingske Saccharometer, fortyndes i de nævnte Forhold, maa ogsaa de fortyndede Blandinger vise 6, 4, 3 osv. Procent paa Saccharometret, hvis Tabellerne ere anvendelige paa dette Tilfælde. Da det imidlertid kunde formodes, at Afvigelserne, hvis de fandtes, vilde være temmelig smaa, kunde det ikke nytte at forsøge paa at maale dem med Flydevægten. Jeg anvendte da først til Vægtfyldebestemmelserne en saakaldet 50 Grams Flaske med en indsleben Glasprop med Thermometer; det viste sig dog snart, at dette Instrument gav upaalidelige Resultater, da man ikke kunde aftørre det, uden at den derved opvarmede Vædske pressedes ud ved Proppen og ligeledes tørredes bort. Derimod faas særdeles nøjagtige og sikre Resultater ved Anvendelse af et Pyknometer, der bestaar af en lille Glasflaske, i hvis Hals der som Prop er indslebet et nøjagtigt i $^1/_5$° inddelt Thermometer. Dette behøver ikke at gaa længere end fra 10° til 30°; dog maa det foroven være forsynet med en lille Udvidelse eller Sæk paa Røret, for ikke at sprænges ved en tilfældig stærk Opvarmning. Endvidere udgaar der fra Flaskens øvre Del et snevert, lodret opstigende Rør, der er inddelt i ligestore Dele (Millimetre). Pyknometret fyldes med den til Undersøgelse bestemte Vædske, der er opvarmet til nogle Grader over Normaltemperaturen (her 17,5° C.). Man bringer derpaa først Indholdet omtrent paa Normaltemperatur ved at holde Instrumentet snart i en kold Vandstraale, snart i Haanden, og tilsidst indstilles det nøjagtigt paa 17,5° i et Vandbad, der har denne Temperatur. I dette maa ligeledes være anbragt et nøjagtigt Thermometer, og Temperaturen maa holdes

nøje paa samme Punkt ved smaa Tilgydninger af varmere eller koldere Vand og flittig Omrøring. Vædsken trækker sig nu sammen i Stigrøret, og Tempereringen fortsættes, indtil denne Vædskesøjle bliver staaende paa samme Punkt af Inddelingen. Man noterer dette Punkt og kan nu rolig aftørre Apparatet og veje det uden at frygte for, at noget gaar tabt. Før Brugen maa man ved Forsøg have fundet, hvormeget Pyknometret vejer fyldt med udkogt, destilleret Vand af Normaltemperaturen til hver af Stigrørets Inddelinger, og have dannet sig en Tabel herover. Det af mig benyttede Pyknometer rummer omtrent 50 Grm. Vand, saa at en Vægtforskjel af $^1/_2$ Milligram svarer omtrent til en Enhed i femte Decimal. I de følgende Forsøg, hvor jeg almindeligvis har anstillet to Vejninger med samme Vædske, viste Fejlgrænsen sig at være omtrent $1{,}5$ Milligram. Fejlen kan altsaa ikke have overskredet 3 Enheder i femte Decimal. Ved Tempereringen bør Temperaturen ikke afvige $0{,}1^0$ fra den normale. Det tomme Pyknometers Vægt blev bestemt forud for hvert Forsøg; det varierer med omtrent 1 Milligram; Tørringen sker hurtigst ved Skylning med lidt Vinaand og tilsidst med Æther og Udsugning af Ætherdampene. Man erindre, ikke at veje det tomme Pyknometer før nogen Tid efter Aftørringen, før den herved opvarmede Luft har antaget Omgivelsernes Temperatur; ellers findes let Vægten flere Milligram for lav. Det med Vædske fyldte Apparat kan derimod vejes straks efter Aftørringen. Aftørringen maa selvfølgelig foretages med stor Omhu, tilsidst med et Tørklæde, der kun anvendes, naar Apparatet tilsyneladende er ganske tørt. Naar Vædsker, der som Ølurt let skumme, bringes i Pyknometret, maa man have Opmærksomheden særligt henvendt paa de smaa Luftblærer, der vanskeligt stige tilvejrs; bedst er det at støde Apparatet nogle Gange fast mod Underlaget og at sætte Proppen ganske langsomt i. Det letter meget Operationen, naar Lokalets Temperatur, hvori Tempereringen foregaar, ligger nær ved den normale.

Det viste sig ved disse Fortyndingsforsøg, at de Vægtfylder og dertil svarende Procenter i Tabellerne, som man fandt for de fortyndede Opløsninger, stemmede meget nær overens med dem, der kunde beregnes af den oprindelige Urts Vægtfylde og Fortyndingsgraden. Dog fandt der altid en lille Afvigelse Sted, som, hvor lille den end var, dog kom igjen ved alle Forsøgene, hvorfor der ikke kunde være Tale om en Tilfældighed ved en enkelt Prøvevædske eller om Iagttagelsesfejl. Det viste sig nemlig altid, at den fortyndede Opløsnings Vægtfylde svarede til en noget lavere Procentstyrke, end der tilkom den efter Fortyndingsgraden.

Som Exempler hensættes:

1. Humleurt af Vgtf. 1,0516 = 12,666 % Balling.

	Beregnet Styrke.	Vægtfylde.	Den til Vgtf. svarende Styrke.	Forskjel.
	%		%	%
a. 10,4845 Gr. Urt, fortyndedes indtil............... 50,840 Gr.	2,612	1,01045	2,587	0,025
b. 20,909 - — — — 50,758 -	5,216	1,0208	5,200	0,016
c. 31,301 - — — — 51,282 -	7,731	1,0311	7,716	0,015
d. 41,8145 - — — — 51,758 -	10,233	1,04135	10,226	0,007

2. Humleurt af Vgtf. 1,0201 = 5,025 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... 1,013 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 1,017 -
Forskjel ÷ 0,004 %

3. Humleurt af Vgtf. 1,0499 = 12,261 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... a. 4,743 %; b. 1,097 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 4,712 - 1,075 -
Forskjel 0,031 % 0,022 %

4. Humleurt af Vgtf. 1,11866 = 27,345 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... a. 12,984 %; b. 2,682 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 12,945 - 2,625 -
Forskjel 0,039 % 0,057 %

5. Pururt (ikke kogt med Humle) af Vgtf. 1,0935 = 22,200 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... a. 11,060 %; b. 2,129 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 11,030 - 2,087 -
Forskjel 0,030 % 0,042 %

6. Ølextrakt af Vgtf. 1,0194 = 4,850 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... 0,905 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 0,918 -
Forskjel ÷ 0,013 %

7. Ølextrakt af Vgtf. 1,03973 = 9,835 % Bgl.
Efter Fortynding; beregnet Styrke......... a. 5,974 %; b. 1,337 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 5,950 - 1,311 -
Forskjel 0,024 % 0,026 %

8. Ølextrakt af Vgtf. 1,0702 = 17,045 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke.......... 1,68 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 1,36 -
Forskjel 0,32 %

9. Ølextrakt af Vgtf. 1,0769 = 18,57 % Blg.
Efter Fortynding; beregnet Styrke.......... 3,87 %
— — den til Vgtf. svarende Styrke 3,25 -
Forskjel 0,62 %

Fornylig har Schulze i »Bayr. Bierbrauer« publiceret et Par lignende Fortyndingsforsøg i en skarpsindig Afhandling om Overensstemmelsen mellem de tvende nu brugelige Methoder for Maltextraktbestemmelser, den saakaldte Proportionalitetsmethode og de to Filtraters Methode. De ere begge grundede paa de Ballingske Tabeller. Uden at gaa nærmere ind paa disse Methoder, som findes udviklede i Haandbøgerne, skal her blot fremhæves, at man ved den første gjør en Vandbestemmelse af Maltet og fremstiller derpaa en vis Vægt Urt deraf, hvis Procentstyrke maales ved Saccharometret. Ved den anden Methode fremstilles et vist Rumfang Urt af Maltet istedetfor en vis Vægt, og der gjøres ingen Vandbestemmelse; men, efter at den først frafiltrerede Urt er bleven undersøgt med Saccharometret, og dens Rumfang noteret, fortyndes Filtrets Indhold til det oprindelige Rumfang, og efter en ny Filtration bestemmes Procentstyrken af denne fortyndede Urt. Af disse Data kan Maltets Indhold af Extrakt bestemmes. Ved nøjagtig ens Udførelse fandt Schulze, at den sidste Methode gav omtrent $1^1/_2$ % lavere Resultater, end den første, og han finder den væsentligste Grund hertil at være den, at Ballings Tabeller angive en lavere Procentstyrke i den fortyndede Urt, end der svarer til Fortyndingen. De Differenstal, som han kommer til, ere dog en Del større end mine.

Disse Forsøg vise altsaa, at den omtalte Afvigelse ved Urt er meget ubetydelig; imidlertid vil man dog senere se, at den er i god Overensstemmelse med de Tørringsforsøg, som nedenfor skulle omtales. Naar Urtens Styrke tager til, stiger ogsaa den ved Fortyndingen frembragte Afvigelse, uden dog, selv ved meget stor Koncentration og stærk Fortynding, at naa nogen betydelig Størrelse. Ved ringe Koncentration og liden Fortynding finder man almindelig slet ingen Afvigelse. Ved Forsøg med Ølextrakt træffes heller ingen Afvigelse ved ringe Koncentration (5 %); jo mere Koncentrationen stiger, desto større Afvigelser finder der ogsaa Sted ved Fortynding, og ved Koncentrationer paa 17—18 % ere de meget betydelige. Slige Ølextraktopløsninger træffes dog aldrig ved undergjæret Øl; de i Forsøgene benyttede vare fremstillede ved Inddampning af 5 % Opløsninger. At slige Opløsninger vilde vise en betydelig Afvigelse, var at vente, da deres Sammensætning i Modsætning til Urtens er temmelig vidt forskjellig fra en Opløsning af Kulhydrater. Ved overgjæret Øl, hvor Extraktmængden vel kan stige til 17 % (Dobbeltøl), men hvor den endnu væsentlig bestaar af Sukker og Dextrin, viser Extraktopløsningen heller ikke et saadant afvigende Forhold ved Fortynding.

Da jeg lejlighedsvis anstillede nogle saadanne Fortyndingsforsøg med Opløsninger af Rørsukker, bemærkede jeg, at ogsaa her gave Tabellerne et andet Tal for Styrken af den fortyndede Opløsning end det beregnede. Da det heraf fremgik, at Tabellerne ikke kunde svare nøjagtigt til rent Sukker, besluttede jeg selv at gjennemgaa den Del af dem, der ligger mellem 0 og 20 %, og som alene har Interesse i denne Sammenhæng. Det til Forsøgene anvendte Sukker var hvid Kandis, der blev omkrystalliseret af 90 % Vinaand og derefter tørret, først ved 40° og tilsidst ved 100°. Med det omtalte Pyknometer har jeg anstillet Vægtfyldebestemmelser paa omtrent 40 forskjellige Opløsninger, hvis Koncentration laa indenfor de nævnte Grænser, og derefter sammenstillet en Tabel, hvoraf her gives et Udtog:

Vægtfylde.	Sukkerprocent.	Sukkerprocent efter Balling.	Forskjel.	Vægtfylde.	Sukkerprocent.	Sukkerprocent efter Balling.	Forskjel.
1,0039	1,000	0,975	0,025	1,0443	11,000	10,928	0,072
1,0078	2,000	1,950	0,050	1,0485	12,000	11,928	0,072
1,0117	3,000	2,925	0,075	1,0527	13,000	12,928	0,072
1,0157	4,000	3,925	0,075	1,0570	14,000	13,952	0,048
1,0197	5,000	4,925	0,075	1,0612	15,000	14,952	0,048
1,0237	6,000	5,925	0,075	1,0655	16,000	15,953	0,047
1,0277	7,000	6,925	0,075	1,0699	17,000	16,976	0,024
1,0318	8,000	7,901	0,099	1,0743	18,000	17,977	0,023
1,0359	9,000	8,901	0,099	1,0787	19,000	18,977	0,023
1,0400	10,000	9,901	0,099	1,0833	20,000	19,977	0,023

Det virkelige Indhold af Sukker i en Opløsning af en vis Vægtfylde er altsaa større, end det angives i Ballings Tabeller. Fejlen er størst ved Opløsninger paa 8—10 %, hvor Ballings Tabeller angive 0,1 % for lidt; henimod 0 og 20 % er Fejlen forsvindende.

Dr. Griessmayer har i »Bayr. Bierbrauer« for 1871 givet nogle Vægtfyldebestemmelser for Rørsukkeropløsninger, ved hvilke han kommer til det Resultat, at Ballings Tabeller gjennemsnitlig angive Sukkerindholdet 0,13 % for lavt. Hans Forsøg ere imidlertid temmelig faa, og Bestemmelserne falde lovlig langt paa begge Sider af det beregnede Middeltal. Derimod stemme de af mig fundne Tal godt med de af Brix ved Regning korrigerede Ballingske Tabeller.

I »Bayr. Bierbrauer« for 1867, p. 160, beskriver Leyser en Del Forsøg, som han har foretaget over Indtørring af Ølextrakt. Han opheder omtr. 10 Grm. Vædske i et Liebigsk Tørrerør til 110° i Oliebad og angiver at faa konstant Vægt i omtr. 18 Timer. Han anfører 12 Analyser af Øl paa 4—6 % Extrakt, udførte paa denne

Maade; i de 11 Tilfælde giver den direkte Methode ham fra 0,6 til 6 % mindre end Ballings, i 1 Tilfælde derimod 8,5 % mere. Efterhaanden begyndte den direkte Bestemmelse at vinde Indpas og rostes som særlig nøjagtig; den udførtes da almindelig ved 110° i en Strøm af tør Luft. Da der ikke forelaa nogen samlet Oversigt over Forholdet mellem de saaledes gjorte Bestemmelser og de Ballingske, bestemte jeg mig til at foretage en Række Extraktbestemmelser ad denne Vej og sammenholde dem med de tilsvarende Vægtfylder. Det viste sig imidlertid snart som en Vanskelighed ved disse Forsøg, at Vægten slet ikke kunde faaes konstant, men at der tværtimod fandt et stadigt Vægttab Sted gennem meget lang Tid, ligegyldigt om Tørringen foretoges ved 100° eller ved 110°. Som Exempel hensættes følgende Vejninger fra et Tørringsforsøg i en tør Luftstrøm ved 100°:

Til Forsøget toges 5,235 Grm. Urt.

Efter	24	Timer	vejede	Resten	0,685	Grm.
—	2 × 24	—	—	—	0,676	-
—	3 × 24	—	—	—	0,673	-
—	4 × 24	—	—	—	0,667	-
—	5 × 24	—	—	—	0,662	-
—	10 × 24	—	—	—	0.650	-
—	20 × 24	—	—	—	0,632	-
—	50 × 24	—	—	—	0,601	-

Da der ikke vel kunde være Tale om et Tab af Vand gjennem saa lang Tid, men der snarere syntes at foreligge en langsom Iltning af Extraktet, ombyttede jeg den tørre Luftstrøm med en Strøm af tør Brint, som iforvejen var renset ved at vaskes med Natronlud og Sublimatopløsning. Men mærkeligt nok er Forholdet her det samme, og ikke bedre stiller det sig ved Anvendelse af tør Kulsyre. Følgende Vejninger vise dette:

Til Tørring i Brint toges 5,307 Grm. Urt.

Efter	24	Timer	vejede	Resten	0,703	Grm.
—	2 × 24	—	—	—	0,688	-
—	3 × 24	—	—	—	0,683	-
—	4 × 24	—	—	—	0,679	-
—	5 × 24	—	—	—	0,674	-
—	7 × 24	—	—	—	0,666	-
—	9 × 24	—	—	—	0,656	-

Jeg opgav da at udføre Tørringen i en Luftstrøm og vendte mig til at indtørre paa Sand. Hertil toges sigtet Sand, som blev udtrukket med Saltsyre, vasket fuldstændig fri for Syre, tilsidst med destilleret Vand, tørret og glødet. Til 5 Kub. Cent. Urt eller Øl, som var

den Mængde, der altid anvendtes i Forsøgene, toges omtr. 25 Grm. Sand i et lille Bægerglas, der under Vejningen holdtes dækket med et Urglas. Efter at dette først var opvarmet i nogen Tid til konstant Vægt, bragtes Vædsken, der skulde indtørres, med en Pipette ud paa Sandet, idet man sørgede for, at den fordeltes jævnt derover. Det hele blev derpaa indsat i et lukket Vandbad, hvori Temperaturen Dag og Nat holdtes paa omtr. 97 °, og derpaa vejet med 24 Timers Mellemrum mellem hver Vejning. Nedenfor gives nogle af disse Vejninger, hvoraf jeg har udført over 100; det vil ses, at hvorvel den nævnte Ulempe, at Vægten stadig tager lidt af, ikke ganske er hævet ved denne Maade at foretage Indtørringen paa, saa er den dog betydelig formindsket, og man synes her ret vel at kunne skjønne, hvor Vandet er gaaet bort, og hvor yderligere Vægttab skyldes fremmede Omstændigheder.

Humleurt af 13,10 % Blg.

6 Prøver hensattes samtidig til Tørring og vejedes samtidig under hele Forsøget.

Prøvens Nr.	Urtens Vægt.	Resten vejede efter				
		24 T.	2 × 24 T.	3 × 24 T.	4 × 24 T.	5 × 24 T.
1	5,245 Gr.	0,669 = 12,75 %	0,662 = 12,62 %	0,662	0,660	0,658
2	5,276 -	0,673 = 12,76 %	0,666 = 12,62 %	0,666	0,663	0,661
3	5,250 -	0,671 = 12,78 %	0,664 = 12,65 %	0,663	0,661	0,660
4	5,233 -	0,670 = 12,80 %	0,661 = 12,63 %	0,661	0,659	0,657
5	5,203 -	0,664 = 12,76 %	0,660 = 12,64 %	0,660	0,657	0,655
6	5,298 -	0,676 = 12,76 %	0,670 = 12,65 %	0,669	0,668	0,665

Vejningerne fortsattes endnu i mange Dage og gave et jævnt Vægttab af 1—2 Milligram i Døgnet. Det ses imidlertid allerede af de nævnte Tal, og dette er særegent for de fleste af Forsøgene, at der indtræder en Standsning i Vægttabet den 2den Dag, saa at Vægten ved den 3die Vejning ofte er fuldstændig konstant, hvad der længe forledede mig til at tro, at der var opnaaet virkelig konstant Vægt efter 48 Timers Forløb. Antager man Extraktmængden fra 2den Vejning, altsaa efter 48 Timers Tørring, for den rette, finder man som Middeltal 12,63 % eller 96,5 % af Procenterne efter Balling. De anførte Vejninger vise tillige, hvor nøje de 6 Prøver af samme Urt stemme overens.

At den efter 48 Timers Forløb fundne Vægt i Virkeligheden svarer til Mængden af Tørstof, derfor taler blandt andet Parallelforsøg, udførte med Rørsukkeropløsninger af bekjendt Styrke (fra 8 til 16 %). Ved at underkaste dem en Tørring paa den nævnte Maade, vil man nemlig finde, at en Vejning efter 38—42 Timers

Forløb giver 100 %; efter 3 × 24 Timer faaes omtrent det Samme, men derefter aftager Vægten jævnt i meget lang Tid, om end i langt ringere Grad, end ved Extraktopløsninger.

Til disse Prøver har jeg taget Humleurt af en Styrke indtil 17 % Blg., Hvidtølurt indtil samme Styrke, Pururt indtil 20 %, forskjellige Sorter Øl og kogt Øl. Ved at beregne Procenterne af Vægten efter 48 Timers Tørring fandt jeg, at Urt paa 5—7 % gav omtrent 98 %, Urt paa 9—12 % omtrent 97 %, og Urt paa 14—16 % omtrent 96 % af de Ballingske Procenter, og at dette Forhold er det samme ved Dekoktions- og Infusionsurt. Ved Ølextrakter paa omtrent 5 % fandt jeg omtrent 97 % af Extraktet efter Balling. Fejlen er altsaa i det hele meget ringe, og der er aldeles ingen Grund til for den Sags Skyld at indføre nogen Rettelse ved de Ballingske Tabeller til deres praktiske Brug*). Derimod kan det vel ofte ved flere Arbejder være bekvemt at benytte sig af den direkte Indtørring, udført paa nævnte Maade, til Bestemmelse af Extraktmængden, da den, navnlig hvor man ellers først skal bortkoge Vinaanden, tager mindre Tid end Vægtfyldebestemmelsen.

Det er fremhævet, at Extraktbestemmelserne vise, at Fejlen ved at bruge Ballings Tabeller er forholdsvis størst ved stærk Urt; dette stemmer godt med Resultatet af de anførte Fortyndingsforsøg. Ved det første af disse Forsøg er man saaledes gaaet ud fra en Urt paa 12,666 % Blg. Ved en Fortynding, der skulde give 2,612 % Blg., finder man istedetfor dette Tal 2,587 %. Efter det ovenstaaende svarer 12,666 % Blg. til $12{,}666 \times 0{,}97 = 12{,}286$ % Extrakt og 2,587 % Blg. til $2{,}587 \times 0{,}98 = 2{,}535$ %. Hvormeget 12,286 % skulde give ved den anvendte Fortynding, findes af Proportionen $12{,}666 : 2{,}612 = 12{,}286 : x$, der giver $x = 2{,}534$ %, hvad der stemmer med det fundne. Af de Afvigelser, der fremkomme ved Fortynding af meget stærke Ølextraktopløsninger, kan man slutte, at saadanne ogsaa ved Indtørring vilde give et betydeligt lavere Resultat end det Ballingske; da dette imidlertid ingen praktisk Betydning har, har jeg ikke anstillet Forsøg derover.

Af Lermer findes der en Række Forsøg til Besvarelse af det samme Spørgsmaal. Han foretager ligesom Leyser sine Bestem-

*) Naar Vægtfylden, som altid i Praxis, bestemmes ved Flydevægt (Saccharometret), er Fejlen sædvanlig noget større. Saccharometret er nemlig almindeligvis afstemt efter en Opløsning af Sukker, maaske endogsaa ikke ganske rent Sukker, og viser derfor noget højere Procenter, end Pyknometret angiver (see denne Afhandling Side 14). Den direkte Bestemmelse vil derfor i Almindelighed kun give 94—95 % af den Extraktmængde, som Saccharometret angiver.

melser i Liebigske Tørrerør og fortsætter Vejningerne i 38 Dage. Han finder ligeledes et stadigt Vægttab og ser ogsaa deri noget Andet end blot et Tab af Vand. Det er derfor paafaldende, at han dog ender med at uddrage det Resultat af Vejningerne fra den 30te Dag, at Ballings Tabeller angive Extraktmængden omtrent 12 % for høit. Efter $12^1/_2$ Dage finder han omtrent 7 % mindre, end Balling. Ligesom jeg, finder han nogen Forskjel mellem svagere og stærkere Urt; efter $12^1/_2$ Dages Forløb faar han saaledes af en 5—13 % Urt 94 %, og af en 17 % Urt kun 93 % af Extraktet efter Balling (»Bayr. Bierbrauer« for 1875).

III.

Om Vinaandbestemmelser.

Til Bestemmelse af Vinaanden i Øl ad indirekte Vej, ɔ: uden Anvendelse af Destillation, undersøger man Vægtfylden af Øllet ved $17{,}5^0$ C., efter at det ved Rystning er befriet for sin Kulsyre og filtreret i Tilfælde af, at det ikke er ganske klart. En vis Mængde (100 Grm.) afvejes derpaa i en lille Kjedel, indkoges til Halvdelen eller Trediedelen og fortyndes med Vand til samme Vægt. Der filtreres fra et lille Bundfald, som har udskilt sig under Kogningen, og Vægtfylden af Filtratet bestemmes ved $17{,}5^0$. Af disse to Data udledes nu Vinaandmængden i det foreliggende Øl, men ved Beregningen er man gaaet forskjellige Veje.

Balling benytter ved Beregningen sine saccharometriske Tabeller og finder deraf først den til Øllet svarende oprindelige Urts Koncentration p, og dernæst dets Indhold af Vinaand A og af Extrakt n. Af disse Størrelser finder han atter Forgjæringsgraden, et Tal, som udtrykker, hvormange Procent Extrakt af dem, der fandtes i den oprindelige Urt, der ere gjærede bort i Form af Vinaand og Kulsyre. For de følgende Analysers Skyld gives her en kort Fremstilling af Gangen i hans Beregning. Øllets Vægtfylde betegnes ved s, Vægtfylden af det »kogte Øl«, det vil sige, af det indtil Halvdelen indkogte og atter til den oprindelige Vægt fortyndede Øl, betegnes ved S. De til Vægtfylden s svarende Extraktprocenter i Ballings Tabeller kaldes m, de til S svarende kaldes n; de sidste udtrykke Extraktprocenterne i det givne Øl efter Balling. $p - m$ kaldes den tilsyneladende Attenuation, $p - n$ den virkelige, af begge kan Vinaandmængden udledes: $A = (p - m)\,a = (p - n)\,b$, ved

Multiplikation med Tallene a, der kaldes Alkoholfaktoren for den tilsyneladende Attenuation, eller b, Alkoholfaktoren for den virkelige Attenuation. De variere med p og findes anførte for hver Værdi af p i Tabeller af Balling; p maa altsaa først findes. $\frac{p - m}{p - n}$, der altid er større end 1, kaldes Attenuationskvotienten q; den varierer med p og voxer med denne. n — m kalder Balling Attenuationsdifferensen; multipliceret med 2,34 giver den en tilnærmende Værdi for Vinaandmængden. Da 1 Vægtdel Vinaand omtrent fordrer 2 Vægtdele Extrakt til sin Dannelse, faar man et tilnærmende Udtryk for den oprindelige Urts Koncentration ved at fordoble den foreløbige Værdi for Vinaandmængden og hertil at lægge Extraktmængden i Øllet n. Til den saaledes fundne, foreløbige Værdi for p opsøger man i dertil af Balling givne Tabeller den tilsvarende Værdi af q, og finder deraf igjen den nøjagtige Værdi for p af Ligningen

$$p = \frac{n - m}{q - 1} + n, \text{ der udledes af } q = \frac{p - m}{p - n}.$$

Af den virkelige Attenuation p — n (eller $\frac{n - m}{q - 1}$) finder man dernæst Vinaandmængden $A = (p - n)\,b$, idet man i Tabellerne opsøger den til det fundne p svarende Alkoholfaktor for den virkelige Attenuation. Den virkelige Forgjæringsgrad er udtrykt ved $F = 100\,\frac{p - n}{p}$; man taler ogsaa om den saakaldte tilsyneladende Forgjæringsgrad, udtrykt ved $F^1 = 100\,\frac{p - m}{p}$.

Reischauer lægger ikke de Ballingske Tabeller til Grund for sine Beregninger. Han betragter Øllet som en Opløsning af Extrakt i fortyndet Vinaand, hvis Vægtfylde Σ søges. Kaldes Øllets Rumfang r, dets Vægtfylde som før s, det kogte Øls Rumfang R, dets Vægtfylde som før S, og erindrer man, at de veje ligemeget, da haves $sr = SR$. Tænker man sig nu, at det kogte Øl gaar tilbage til at blive Øl, saa vil det udvide sig fra Rumfanget R til Rumfanget r, idet man ombytter Vand med fortyndet Vinaand. Naar Vand af Rumfanget R ved Ombytning af en vis Del deraf med Vinaand udvidede sig til Rumfanget r, saa vilde man faa en Vinaand, hvoraf r Kub. Cent. vejede $R = \frac{sr}{S}$ Gram, ɔ: have en Vægtfylde $= \frac{R}{r} = \frac{s}{S}$. Reischauer forudsætter nu, at Forholdet vil være det samme ved det kogte Øl, og han sætter altsaa $\Sigma = \frac{s}{S}$. Til denne

Vægtfylde opsøges de tilsvarende Vinaandprocenter P_{Σ} i Tabellerne*). Man har da, idet den absolute Vinaandmængde i det undersøgte Kvantum Øl sr kaldes a, og Vinaandprocenterne i Øllet som før betegnes ved A:

$$P_{\Sigma} : 100 = a : \frac{sr}{S} \text{ (Mængden af fortyndet Vinaand i Øllet).}$$

$$a = \frac{P_{\Sigma} . sr}{100 . S}$$

$$\frac{a}{A} = \frac{sr}{100}, \quad A = \frac{100\,a}{sr} = \frac{P_{\Sigma}}{S}$$

Man har altsaa fundet:

$$\Sigma = \frac{s}{S}$$

$$A = \frac{P_{\Sigma}}{S}$$

som ere de Reischauerske Formler til Beregningen af Vinaanden i Øl.

Korschelt dadler Reischauer, fordi han intet Hensyn tager til Extraktet ved Udledningen af Udtrykket for Σ. Naar et Rumfang kogt Øl R tænkes at udvide sig til et Rumfang Øl r, saa er dette efter Korschelt ensbetydende med, at et Rumfang Vand $R - \varrho$ udvider sig til et Rumfang $r - \varrho$ ved Substitution af en Del af dets Vægt med Vinaand, hvor da ϱ betegner Extraktets Rumfang, saa at man derved faar en Vinaand, hvis Rumfang er $r - \varrho$ Kub. Cent., og hvis Vægt er $R - \varrho$ Gram, ɔ: har en Vægtfylde $= \frac{R - \varrho}{r - \varrho}$. Extraktets Rumfang ϱ er lig Rumfanget af det kogte Øl R — Rumfanget af det deri indeholdte Vand, der er udtrykt ved dette Vands Vægt. Denne Vægt er atter lig Vægten af det kogte Øl SR — Vægten af det deri indeholdte Extrakt, der, naar n som før betegner Extraktprocenterne, er $= \frac{n\,S\,R}{100}$, altsaa Vandets Vægt (Rumfang $= SR - \frac{n\,S\,R}{100} = S\,R\left(1 - \frac{n}{100}\right)$, og Extraktets

*) Fownes's Tabeller, som ere bestemte for en Temperatur af $15{,}5^0$ C. De findes omregnede for en Temperatur af 14^0 R = $17{,}5^0$ C. i Holzners Attenuationslehre p. XXXIX. Andre Tabeller ere givne af Brix for 60^0 F. = $15{,}5^0$ C., af Stampfer for 12^0 R. = 15^0 C. I alle disse Tabeller er Vandets Vægtfylde ved den paagjældende Normaltemperatur sat = 1. Endelig haves Tabeller af Gilpin og Tralles for $15{,}5^0$ C., hvor Vandets Vægtfylde er sat = 1 ved 4^0, eller = 0,9991 ved Normaltemperaturen. Her blive altsaa de ved Pyknometret fundne Vægtfylder at reducere til Vand af 4^0.

Rumfang $\varrho = R - SR\left(1 - \frac{n}{100}\right)$, altsaa

$$R - \varrho = SR\left(1 - \frac{n}{100}\right)$$

$$r - \varrho = \frac{SR}{s} - R + SR\left(1 - \frac{n}{100}\right) = SR\left(\frac{1}{s} - \frac{1}{S} + 1 - \frac{n}{100}\right)$$

$$\Sigma = \frac{1 - \frac{n}{100}}{\left[\left(\frac{1}{s} - \frac{1}{S}\right) + \left(1 - \frac{n}{100}\right)\right]}$$

$P_\Sigma : 100 = a : (R - \varrho)$ (Vægten af den fortyndede Vinaand i Øllet)
$= a : SR\left(1 - \frac{n}{100}\right)$

$$a = \frac{P_\Sigma \, . \, SR\left(1 - \frac{n}{100}\right)}{100}$$

$$a : A = SR : 100, \; A = \frac{100\,a}{RS} = P_\Sigma\left(1 - \frac{n}{100}\right)$$

Man har altsaa fundet:

$$\Sigma = \frac{1 - \frac{n}{100}}{\left[\left(\frac{1}{s} - \frac{1}{S}\right) + \left(1 - \frac{n}{100}\right)\right]}$$

$$A = P_\Sigma\left(1 - \frac{n}{100}\right)$$

som ere de Korscheltske Formler for Beregningen af Vinaanden i Øl.

Holzner gjør opmærksom paa, at Forskjellen i de to Formler fremkommer ved, at Korschelt antager, at Øllets og det kogte Øls Rumfang ligefrem er Summen af Extraktets Rumfang og Rumfanget af henholdsvis den fortyndede Vinaand og Vandet, m. a. O., at der ingen Sammentrækning finder Sted ved Opløsning af Extrakt i Vand eller Vinaand. Reischauer gaar derimod ud fra, at der finder en saa stærk Sammentrækning Sted, at Rumfanget af den fortyndede Vinaand og af Vandet ikke forandres ved, at der opløses Extrakt deri. Værdien af Σ efter Reischauer bliver altid større end efter Korschelt, undtagen ved Forgjæringer paa 0 og 100, hvor de falde sammen (i første Tilfælde er $r = R$, $\Sigma = 1$, i andet $\varrho = 0$, $\Sigma = \frac{R}{r}$); den største Forskjel vil da fremkomme ved Forgjæringer paa omtr. 50.

Otto siger i sin »landwirthschaftliche Gewerbe«: Øllets Vægtfylde forholder sig til det kogte Øls Vægtfylde, som Vægtfylden af

en Vinaand af samme Procentstyrke som Øllets (Σ) forholder sig til Vandets, eller:

$$\Sigma = \frac{s}{S}, \ A = P_{\Sigma}$$

der ere Ottos Formler for Beregningen af Vinaanden i Øl.

Efter Zenneck er Differensen mellem Vægtfylderne af det kogte Øl og Øllet lig Differensen mellem Vægtfylderne af Vandet og af en Vinaand af samme Styrke som den, der findes i Øllet (Σ), altsaa

$$S - s = 1 - \Sigma$$

$$\Sigma = 1 + s - S, \ A = P_{\Sigma}.$$

Disse ere de hidtil benyttede Formler for Beregningen af Vinaandmængden i Øl. De Principer, hvortil de støtte sig, ere for en Del ubekjendte eller urigtige. Balling gaar ved Beregningen af sine Alkoholfaktorer ud fra, at der er et konstant Forhold mellem den dannede Vinaand og den udskilte Gjær, hvad der ikke altid er Tilfældet. Som ovenfor omtalt, gjøre Korschelt og Reischauer ved Udledningen af deres Formler visse Forudsætninger med Hensyn til Sammentrækningsforholdene ved Opløsning af Extrakt i Vand eller Vinaand, men herom er der hidtil Intet med Sikkerhed bekjendt. Det synes, som om Korschelts Antagelse er den, der har størst Sandsynlighed for sig. Balling fremhæver vel i sin »Gährungschemie«, II, S. 36, at Extrakt ved Opløsning i Vand trækker sig stærkt sammen. Da Extrakt imidlertid med Hensyn til Opløsningernes Vægtfylde viser stor Overensstemmelse med Rørsukker, og de tørre Stoffer ogsaa have omtrent den samme Vægtfylde*), maa de ogsaa omtrent stemme overens i Henseende til Sammentrækningsforholdene. Nu vil man imidlertid finde ved Benyttelse af Tabellerne for Sukkeropløsningers Vægtfylde, at Sukker + Vand før Opløsningen har omtrent samme Rumfang som Sukkeropløsningen. Saaledes finder man, at:

5 Grm. Sukker fylder	3,11 Kb. Ct.	7 Grm. Sukker fylder	4,36 Kb. Ct.
95 » Vand »	95,00 »	93 » Vand »	93,00 »
	98,11 Kb. Ct.		97,36 Kb. Ct.
100 Grm. Sukkeropl. af 5 % har en Vægtfylde af 1,0197 og fylder altsaa	98,07 Kb. Ct.	100 Grm. Sukkeropl. af 7 % har en Vægtfylde af 1,0277 og fylder altsaa	97,30 Kb. Ct.
Sammentrækning =	0,04 Kb. Ct.	Sammentrækning =	0,06 Kb. Ct.

*) Efter Thomson har tørt Extrakt en Vægtfylde af 1,552, medens Rørsukkerets er 1,606.

10 Grm. Sukker	fylder	6,23	Kb. Ct.
90 » Vand	»	90,00	»
		96,23	Kb. Ct.
100 Grm. Sukkeropl. af 10 % har en Vægtfylde af 1,0400 og fylder altsaa		96,16	Kb. Ct.
Sammentrækning	=	0,07	Kb. Ct.

12 Grm. Sukker	fylder	7,47	Kb. Ct.
88 » Vand	»	88,00	»
		95,47	Kb. Ct.
100 Grm. Sukkeropl. af 12 % har en Vægtfylde af 1,0485 og fylder altsaa		95,38	Kb. Ct.
Sammentrækning	=	0,09	Kb. Ct.

Sammentrækningen er altsaa i dette Tilfælde forsvindende, kun lidt over 1 % af Sukkerets Rumfang. Lægges Thomsons Tal 1,55 til Grund for en Beregning, vil Forholdet stille sig saaledes for en 5 % Extraktopløsning:

5 Grm. Extrakt	fylder	3,23	Kb. Ct.
95 » Vand	»	95,00	»
		98,23	Kb. Ct.
100 Grm. Extraktopl. af 5 % har en Vægtfylde af 1,020 og fylder altsaa		98,04	Kb. Ct.
Sammentrækning	=	0,19	Kb. Ct.,

ɔ: knap 6 % af Extraktets Rumfang.

Ottos Formel (den specifiske Methode) er, som det let vil indsees, nærmest anvendelig ved store Vinaand- og smaa Extraktmængder. Zennecks Formel er egentlig kun et mindre korrekt Udtryk for Ottos.

For altsaa at kunne bedømme, hvorvidt den ene eller den anden af disse Formler fortjener Fortrinet, og hvilke Afvigelser fra det Rigtige de i det hele taget kunne give Anledning til, er der ingen anden Vej at gaa, end at foretage Vinaandbestemmelser paa den samme Prøve, dels direkte ved Destillation, dels indirekte, og beregne Vinaandprocenterne af den indirekte Analyse efter de forskjellige, ovenfor nævnte Formler. Disse Bestemmelser bør gjøres i stort Antal og omfatte Ølsorter af saa afvigende Sammensætning som muligt.

Nedenstaaende Analyser ere udførte paa saadan dobbelt Maade og give altsaa et Bidrag til den omtalte empiriske Kritik af Alkoholformlerne. Destillationerne ere udførte med omtr. 100 Grm. Vædske, der bragtes i en lille tubuleret Retort, som var anbragt i et Oliebad efter Reischauers Forslag. Det af mig anvendte var netop stort nok til at optage Retorten; det indeholdt altsaa kun en ringe Mængde Olie og blev derfor hurtigt afkølet, naar Lampen fjernedes. Ved Destillationens Begyndelse er Vædsken nemlig tilbøjelig til at

stige over; man maa da for en Tid fjerne Lampen og, ved at blæse paa Retorten, søge at holde Skummet nede; af samme Grund bør Retorthalsen vise opad. En lille Tilsætning af Tannin efter Mohrs Forslag hjælper ogsaa godt derpaa. Da Øllet altid indeholder en ringe Mængde flygtig Syre, tilsætter man ligeledes i Retorten en til dens Mætning tilstrækkelig Mængde Kalkvand. Afkølingen skete i et Slange-Svalerør, der ved en kort Slange af sort Gummi var forbundet med Retorten. Forlaget, en lille forud vejet Kolbe paa omtrent 100 Kub. Cent., stilledes i et Bægerglas med Is, hvad der ikke bør forsømmes, naar man arbejder i et varmt Værelse. Destillatet havde ingen ren Vinaandlugt, men en mere eller mindre stærk fuselagtig, og det kunde ikke undgaa Opmærksomheden, at der i saa Henseende var en betydelig Forskjel ved de forskjellige Ølsorter. Destillatets Vægt, der var omtrent $^2/_3$ af den anvendte Vædskes, blev i Regelen ved Tilsætning af Vand bragt op til dennes Vægt, Vægtfylden blev bestemt med Pyknometret ved 14° R., og den tilsvarende P_Σ opsøgt i de for 14° R omregnede Fownesske Tabeller. I Almindelighed er hver Vinaandbestemmelse et Middeltal af to meget nær overensstemmende Destillationsforsøg.

Vægtfylden af Øllet og det kogte Øl bestemtes ligeledes med Pyknometret ved 14° R.

Ved hver Ølsort er tillige opført Resultatet af den saccharometriske Analyse, beregnet efter Balling; den giver Oplysning om Mængden af Extrakt og Vinaand i Øllet, den oprindelige Urts Styrke og Forgjæringsgraden, saavel den virkelige, som den tilsyneladende:

Nr. 1. Carlsberg Lagerøl.

s = 1,0130.
S = 1,0203.

Vinaand,	ved Destillation	=	4,00 %.
—	efter Korschelt	=	3,97 -
—	- Reischauer	=	3,93 -
—	- Balling	=	4,06 -
—	- Otto	=	4,04 -
—	- Zenneck	=	4,12 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,250.
n = 5,075.

Vinaand	=	4,06 %.
Extrakt	=	5,08 -
Vand	=	90,86 -
		100,00.

Urtens Styrke = 12,91 %.
Forgjæring, virkelig = 61.
— tilsynel. = 75.

Nr. 2. Samme Ølsort.

s = 1,0115.
S = 1,0190.

Vinaand, ved Destillation	=	4,06 %.
— efter Korschelt	=	4,09 -
— - Reischauer	=	4,08 -
— - Balling	=	4,17 -
— - Otto	=	4,16 -
— - Zenneck	=	4,25 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 2,875.
n = 4,750.

Vinaand = 4,17 %.
Extrakt = 4,75 -
Vand = 91,08 -

100,00.

Urtens Styrke = 12,80 %.
Forgjæring, virkelig = 63.
— tilsynel. = 77,5.

Nr. 3. Carlsberg Beer.

s = 1,0161.
S = 1,0251.

Vinaand, ved Destillation	=	5,01 %.
— efter Korschelt	=	4,96 -
— - Reischauer	=	4,94 -
— - Balling	=	5,00 -
— - Otto	=	5,06 -
— - Zenneck	=	5,20 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 4,025.
n = 6,268.

Vinaand = 5,00 %.
Extrakt = 6,27 -
Vand = 88,72 -

100,00.

Urtens Styrke = 15,78 %.
Forgjæring, virkelig = 60.
— tilsynel. = 74,5.

Nr. 4. Samme Ølsort.

s = 1,0159.
S = 1,0249.

Vinaand, ved Destillation = 5,00 %.
— efter Korschelt = 4,95 -
— - Reischauer = 4,93 -
— - Balling = 5,01 -
— - Otto = 5,05 -
— - Zenneck = 5,20 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,975.
n = 6,219.

Vinaand = 5,01 %.
Extrakt = 6,22 -
Vand = 88,77 -

100,00.

Urtens Styrke = 15,74 %.
Forgjæring, virkelig = 60,5.
— tilsynel. = 75.

Nr. 5. Carlsberg Double Brown Stout.

s = 1,0277.
S = 1,0357.

Vinaand, ved Destillation = 4,29 %.
— efter Korschelt = 4.26 -
— - Reischauer = 4,24 -
— - Balling = 4,35 -
— - Otto = 4,39 -
— - Zenneck = 4,57 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 6,901.
n = 8,853.

Vinaand = 4,35 %.
Extrakt = 8,85 -
Vand = 86,80 -

100,00.

Urtens Styrke = 17,05 %.
Forgjæring, virkelig = 48.
— tilsynel. = 60.

Nr. 6. Tuborg Øl.

s = 1,0177.
S = 1,0260.

Vinaand, ved Destillation = 4,47 %.
— efter Korschelt = 4,52 -
— - Reischauer = 4,51 -
— - Balling = 4,59 -
— - Otto = 4,62 -
— - Zenneck = 4,75 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 4,425.
n = 6,488.

Vinaand = 4,59 %.
Extrakt = 6,49 -
Vand = 88,82 -

100,00.

Urtens Styrke = 15,23 %.
Forgjæring, virkelig = 57,5.
— tilsynel. = 72.

Nr. 7. Tuborg Lagerøl.

s = 1,0158.
S = 1,0233.

Vinaand, ved Destillation = 4,09 %.
— efter Korschelt = 4,07 -
— - Reischauer = 4,06 -
— - Balling = 4,17 -
— - Otto = 4,15 -
— - Zenneck = 4,25 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,950.
n = 5,825.

Vinaand = 4,17 %.
Extrakt = 5,83 -
Vand = 90,00 -

100,00.

Urtens Styrke = 13,84 %.
Forgjæring, virkelig = 58.
— tilsynel. = 72.

Nr. 8. Albani Lagerøl.

s = 1,0212.
S = 1,0281.

Vinaand, ved Destillation = 3,78 %.
— efter Korschelt = 3,66 -
— - Reischauer = 3,68 -
— - Balling = 3,78 -
— - Otto = 3,77 -
— - Zenneck = 3,89 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,300.
n = 7,000.

Vinaand = 3,78 %.
Extrakt = 7,00 -
Vand = 89,22 -

100,00.

Urtens Styrke = 14,24 %.
Forgjæring, virkelig = 51.
— tilsynel. = 63.

Nr. 9. Svanholm Lagerøl.

s = 1,0148.
S = 1,0226.

Vinaand, ved Destillation = 4,28 %.
— efter Korschelt = 4,25 -
— - Reischauer = 4,28 -
— - Balling = 4,35 -
— - Otto = 4,32 -
— - Zenneck = 4,44 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,700.
n = 5,650.

Vinaand = 4,35 %.
Extrakt = 5,65 -
Vand = 90,00 -

100,00.

Urtens Styrke = 13,98 %.
Forgjæring, virkelig = 59,5.
— tilsynel. = 73,5.

Nr. 10. Thüringer Bier.

s = 1,0162.
S = 1,0242.

Vinaand, ved Destillation = 4,41 %.
— efter Korschelt = 4,35 -
— - Reischauer = 4,34 -
— - Balling = 4,49 -
— - Otto = 4,44 -
— - Zenneck = 4,57 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 4,050.
n = 6,048.

Vinaand = 4,49 %.
Extrakt = 6,05 -
Vand = 89,46 -

100,00.

Urtens Styrke = 14,55 %.
Forgjæring, virkelig = 58.
— tilsynel. = 72.

Nr. 11. Pale Ale, Bass & Co.

s = 1,0211.
S = 1,0336.

Vinaand, ved Destillation = 7,19 %.
— efter Korschelt = 7,02 -
— - Reischauer = 6,97 -
— - Balling = 6,88 -
— - Otto = 7,20 -
— - Zenneck = 7,48 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,275.
n = 8,341.

Vinaand = 6,88 %.
Extrakt = 8,34 -
Vand = 84,78 -

100,00.

Urtens Styrke = 19,87 %.
Forgjæring, virkelig = 18,5
— tilsynel. = 23.

Nr. 16. Bittert Øl, fra samme.

s = 1,0375.
S = 1,0407.

Vinaand, ved Destillation = 1,59 %.
— efter Korschelt = 1,60 -
— - Reischauer = 1,60 -
— - Balling = 1,73 -
— - Otto = 1,66 -
— - Zenneck = 1,73 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 9,292.
n = 10,071.

Vinaand = 1,73 %.
Extrakt = 10,07 -
Vand = 88,20 -

100,00.

Urtens Styrke = 13,40 %.
Forgjæring, virkelig = 25.
— tilsynel. = 30,05.

Nr. 17. Prima Hvidtøl, fra samme.

s = 1,0382.
S = 1,0397.

Vinaand, ved Destillation = 0,68 %.
— efter Korschelt = 0,75 -
— - Reischauer = 0,74 -
— - Balling = 0,81 -
— - Otto = 0,77 -
— - Zenneck = 0,81 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 9,463.
n = 9,828.

Vinaand = 0,81 %.
Extrakt = 9,83 -
Vand = 89,36 -

100,00.

Urtens Styrke = 11,41 %.
Forgjæring, virkelig = 14.
— tilsynel. = 17.

Nr. 18. Hvidtøl Nr. 1, fra samme.

s = 1,0304.
S = 1,0321.

Vinaand, ved Destillation = 0,82 %.
— efter Korschelt = 0,87 -
— - Reischauer = 0,87 -
— - Balling = 0,92 -
— - Otto = 0,89 -
— - Zenneck = 0,92 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 7,560.
n = 7,975.

Vinaand = 0,92 %.
Extrakt = 7,98 -
Vand = 91,10 -
100,00.

Urtens Styrke = 9,78 %.
Forgjæring, virkelig = 18.
— tilsynel. = 23.

Nr. 19. Hvidtøl Nr. 2, fra samme.

s = 1,0237.
S = 1,0251.

Vinaand, ved Destillation = 0,79 %.
— efter Korschelt = 0,72 -
— - Reischauer = 0,71 -
— - Balling = 0,76 -
— - Otto = 0,73 -
— - Zenneck = 0,75 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,925.
n = 6,268.

Vinaand = 0,76 %.
Extrakt = 6,27 -
Vand = 92,97 -
100,00.

Urtens Styrke = 7,77 %.
Forgjæring, virkelig = 19.
— tilsynel. = 23,5.

Nr. 20. Skibsøl, fra samme.

s = 1,0140.
S = 1,0154.

Vinaand, ved Destillation = 0,67 %.
— efter Korschelt = 0,78 -
— - Reischauer = 0,78 -
— - Balling = 0,77 -
— - Otto = 0,74 -
— - Zenneck = 0,75 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,500.
n = 3,850.

Vinaand = 0,77 %.
Extrakt = 3,85 -
Vand = 95,38 -

100,00.

Urtens Styrke = 5,43 %.
Forgjæring, virkelig = 28,5.
— tilsynel. = 36.

Nr. 21. Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.

s = 1,0622.
S = 1,0652.

Vinaand, ved Destillation = 1,45 %.
— efter Korschelt = 1,43 -
— - Reischauer = 1,43 -
— - Balling = 1,57 -
— - Otto = 1,52 -
— - Zenneck = 1,62 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 15,186.
n = 15,883.

Vinaand = 1,57 %.
Extrakt = 15,88 -
Vand = 82,55 -

100,00.

Urtens Styrke = 18,80 %.
Forgjæring, virkelig = 15,5.
— tilsynel. = 19.

Nr. 22. Maltextrakt, fra samme.

s = 1,0618.
S = 1,0660.

Vinaand, ved Destillation = 2,02 %.
— efter Korschelt = 2,04 -
— - Reischauer = 2,04 -
— - Balling = 2,20 -
— - Otto = 2,17 -
— - Zenneck = 2,31 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 15,093.
n = 16,070.

Vinaand = 2,20 %.
Extrakt = 16,07 -
Vand = 81,73 -
100,00.

Urtens Styrke = 20,14 %.
Forgjæring, virkelig = 20.
— tilsynel. = 25.

Nr. 23. Prima Hvidtøl, fra samme.

s = 1,0370.
S = 1,0390.

Vinaand, ved Destillation = 1,06 %.
— efter Korschelt = 1,00 -
— - Reischauer = 0,99 -
— - Balling = 1,08 -
— - Otto = 1,03 -
— - Zenneck = 1,08 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 9,170.
n = 9,657.

Vinaand = 1,08 %.
Extrakt = 9,66 -
Vand = 89,26 -
100,00.

Urtens Styrke = 11,76 %.
Forgjæring, virkelig = 18.
— tilsynel. = 22.

Nr. 24. Hoff's Maltextrakt.

s = 1,0278.
S = 1,0347.

Vinaand, ved Destillation = 3,75 %.
— efter Korschelt = 3,63 -
— - Reischauer = 3,62 -
— - Balling = 3,76 -
— - Otto = 3,75 -
— - Zenneck = 3,89 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 6,925.
n = 8,609.

Vinaand = 3,76 %.
Extrakt = 8,61 -
Vand = 87,63 -
100,00.
Urtens Styrke = 15,75 %.
Forgjæring, virkelig = 45.
— tilsynel. = 56.

For lettere Oversigts Skyld ere disse Analyser og Beregninger sammenstillede i omstaaende Tabel. Værdierne af s, S, m og n, der i de foranstaaende Analyser ere medtagne, for at Enhver ved Hjælp deraf kan kontrollere Rigtigheden af de med dem udførte Beregninger, ere i Tabellen udeladte.

Nr.	Ølsort.	Vinaand ved Destillation.	Vinaand efter Korschelt.	Vinaand efter Reischauer.	Vinaand efter Balling.	Vinaand efter Otto.	Vinaand efter Zenneck.	Saccharometrisk Analyse. Vinaand.	Extrakt.	Vand.	Urtens Styrke.	Forgjæring, virkelig.	Forgjæring, tilsynelad.	Ølsort.	Nr.
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%				
1	Carlsberg Lagerøl.	4,00	3,97	3,93	4,06	4,04	4,12	4,06	5,06	90,86	12,91	61	75	Carlsberg Lagerøl.	1
2	Samme Ølsort.	4,06	4,09	4,08	4,17	4,16	4,75	4,17	4,75	91,08	12,80	63	77,5	Samme Ølsort.	2
3	Carlsberg Beer.	5,01	4,96	4,94	5,00	5,06	5,20	5,00	6,27	88,72	15,78	60	74,5	Carlsberg Beer.	3
4	Samme Ølsort.	5,00	4,95	4,93	5,01	5,05	5,20	5,01	6,22	88,77	15,74	60,5	75	Samme Ølsort.	4
5	Carlsberg Double Brown Stout.	4,29	4,26	4,24	4,35	4,39	4,57	4,35	8,85	86,80	17,05	48	60	Carlsberg Double Brown Stout	5
6	Tuborg Øl	4,47	4,52	4,51	4,59	4,62	4,75	4,59	6,49	88,82	15,23	57,5	72	Tuborg Øl.	6
7	Tuborg Lagerøl.	4,09	4,07	4,06	4,17	4,15	4,25	4,17	5,83	90,00	13,84	58	72	Tuborg Lagerøl.	7
8	Albani Lagerøl.	3,73	3,66	3,68	3,78	3,77	3,89	3,78	7,00	89,22	14,24	51	63	Albani Lagerøl.	8
9	Svanholm Lagerøl.	4,23	4,25	4,23	4,35	4,32	4,44	4,35	5,65	90,00	13,98	59,5	73,5	Svanholm Lagerøl.	9
10	Thüringer Bier.	4,41	4,35	4,34	4,49	4,44	4,57	4,49	6,05	89,46	14,55	58	72	Thüringer Bier.	10
11	Pale Ale, Bass & Co.	7,10	7,02	6,97	6,88	7,20	7,46	6,88	8,34	84,78	21,01	60	75	Pale Ale, Bass & Co.	11
12	Bock Ale, Strasbourg.	5,05	5,08	5,07	5,13	5,19	5,32	5,13	5,93	88,94	15,68	62	77	Bock Ale, Strasbourg.	12

Nr.	Ølsort.	Vinaand						Saccharometrisk Analyse.						Ølsort.	Nr.
		ved Destillation.	efter Korschelt.	efter Reischauer.	efter Balling.	efter Otto.	efter Zenneck.	Vinaand.	Extrakt.	Vand.	Urtens Styrke.	Forgjæring, virkelig.	Forgjæring, tilsynelad.		
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%				
13	Extra Stout, Bass & Co.	7,57	7,47	7,43	7,28	7,70	8,03	7,28	9,27	83,45	22,59	59	73	Extra Stout, Bass & Co.	13
14	Imperial Stout, Bass & Co.	7,07	6,98	6,95	6,73	7,06	7,21	6,73	4,33	88,94	17,02	75	92,5	Imperial Stout, Bass & Co.	14
15	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri A.	1,84	1,84	1,82	1,98	1,94	2,08	1,98	16,19	81,83	19,87	18,5	23	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri A.	15
16	BitterØl, fra samme.	1,59	1,60	1,60	1,73	1,66	1,73	1,73	10,07	88,20	13,40	25	30	BitterØl, fra samme.	16
17	Prima Hvidtøl, fra samme.	0,68	0,75	0,74	0,81	0,77	0,81	0,81	9,83	89,36	11,41	14	17	Prima Hvidtøl, fra samme.	17
18	Hvidtøl Nr. 1, fra samme.	0,82	0,87	0,87	0,92	0,89	0,92	0,92	7,98	91,10	9,78	18	23	Hvidtøl Nr. 1, fra samme.	18
19	Hvidtøl Nr. 2, fra samme.	0,79	0,72	0,71	0,76	0,73	0,75	0,76	6,27	92,97	7,77	19	23,5	Hvidtøl Nr. 2, fra samme.	19
20	Skibsøl, fra samme.	0,67	0,73	0,73	0,77	0,74	0,75	0,77	3,85	95,38	5,43	28,5	36	Skibsøl, fra samme.	20
21	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.	1,45	1,43	1,43	1,57	1,52	1,62	1,57	15,88	82,55	18,80	15,5	19	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.	21
22	Maltextrakt, fra samme.	2,02	2,04	2,04	2,20	2,17	2,31	2,20	16,07	81,73	20,14	20	25	Maltextrakt, fra samme.	22
23	Prima Hvidtøl, fra samme.	1,06	1,00	0,99	1,08	1,03	1,08	1,08	9,66	89,26	11,76	18	22	Prima Hvidtøl, fra samme.	23
24	Hoff's Maltextrakt.	3,75	3,63	3,62	3,76	3,75	3,89	3,76	8,61	87,63	15,75	45	56	Hoff's Maltextrakt.	24

Ved at sammenligne disse Tal, vil man se: at Korschelts og Reischauers Formler sjælden give Anledning til kjendelige Differenser; — at de direkte Bestemmelser i de fleste Tilfælde stemme lidt bedre med Korschelts Formler end med Reischauers og almindelig falde meget nær ved de ved disse Beregninger fundne Tal, men at dette dog ikke gjælder uden Undtagelse, idet enkelte Analyser have givet forholdsvis betydelige Afvigelser (Nr. 11, 13, 14, 24); — at Ballings Beregningsmaade i Almindelighed angiver Vinaandmængden kjendelig for høj, men at der dog ogsaa kan findes enkelte Exempler paa det Modsatte (Nr. 11, 13, 14); — at Ottos og navnlig Zennecks Formler ligeledes angive Vinaandmængden for høj; og — at Afvigelser fra de nævnte Regler især forekomme ved Ølsorter af meget betydelig Styrke eller Forgjæring eller anden ualmindelig Beskaffenhed.

Reischauers Formler, der angive Vinaandmængden med en Nøjagtighed, der for Praxis er fuldkommen tilstrækkelig, og som udmærke sig fremfor Korschelts ved den liden Regning, som dermed er forbunden, maa anses for de bedste til praktisk Brug.

De Afvigelser, som den direkte Bestemmelse hist og her viser fra Reischauers og Korschelts Formler, pege hen paa, at der er Forhold, som ikke ere tagne i Betragtning ved deres Udledning. Her skal saaledes blot nævnes, at, naar Extraktmængden i det kogte Øl sættes lig Extraktmængden i det oprindelige, da er dette ikke ganske rigtigt, eftersom en lille Del deraf er udskilt under Kogningen og filtreret fra. Tilmed er denne Udskilning meget forskjellig ved de forskjellige Ølsorter. Ved at tage Hensyn hertil, kunde det maaske lykkes at faa en fuldstændigere Overensstemmelse, men ved at medtage en slig Bestemmelse, vilde den indirekte Analyse blive langt vidtløftigere end en Destillationsprøve og følgelig være meningsløs.

Beretning
om
de i Carlsberg Laboratoriets fysiologiske Afdeling udførte Arbejder,
fra Juli 1876 til Slutningen af Juli 1877.

Af

Rasmus Pedersen.

I.

Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa Formeringen af Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ.

Det synes, at der hidtil ikke har været anstillet nærmere Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa den Hurtighed, hvormed Gjærcellerne formere sig, i det mindste har jeg forgjæves søgt efter saadanne Undersøgelser i Litteraturen. Om den Gjærmængde, der danner sig under hele Forløbet af en Gjæring — et Spørgsmaal, der rigtignok staar i nogen Forbindelse med det ovennævnte om Gjærcellernes Formeringshastighed, men med hvilket det dog ingenlunde falder sammen — haves vel Undersøgelser, saaledes f. Ex. af Pasteur og Mayer, men disse Undersøgelser ere dog i mange Henseender højst mangelfulde og have ikke sjælden givet Resultater, der staa i aabenbar Strid med Praxis og med almindelige fysiologiske Grundsætninger. Der turde derfor være god Grund til at anstille nye Undersøgelser saa vel over det ene som over det andet af disse Spørgsmaal. Ved Undersøgelserne over forskjellige Stoffers gjæringshæmmende og gjæringsvækkende Virkninger har man næsten aldrig spurgt, om disse Virkninger skyldes en Indvirkning paa Gjærcellernes Formering, eller om de skyldes en Indvirkning paa deres Fermentevne (deres Stofskifte): der

er ikke spurgt, om et hæmmet (eller paaskyndet) Gjæringsforløb hidrører derfra, at et mindre (eller større) Antal Gjærceller udfører Gjæringsarbejdet, eller om det hidrører derfra, at den enkelte Gjærcelle arbejder med mindre (eller større) Styrke. At disse Spørgsmaal ikke ere blevne stillede, hidrører vel tildels derfra, at man ikke altid skarpt nok har skjelnet imellem Gjærcellernes Formeringsevne og deres Fermentevne (i Forbindelse med deres Stofskifte). De nyere Undersøgelser have vist, at Gjærcellernes Formeringsevne og deres Fermentevne ikke paa samme Maade ere afhængige af de ydre Livsbetingelser, og at den ene af disse Evner meget vel kan ytre sig uden den anden. Disse Overvejelser lede ogsaa ind paa det fundamentale Spørgsmaal om Gjærformeringen, der maa løses, førend man med Held kan tage fat paa en Mængde andre Spørgsmaal vedrørende Gjæringen. — Ved Undersøgelser over Gjærcellens Formering kan vist nok ogsaa opnaas Resultater, der have Betydning for den almindelige Fysiologi, da vore Kundskaber om de Faktorer, der have Indflydelse paa Cellernes Formering, overhovedet ere yderst tarvelige. — At disse Undersøgelser ville strække sig over et langt Tidsrum, er en Selvfølge; hvad jeg giver i det følgende, er derfor kun en Begyndelse.

1. Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering.

I Litteraturen findes kun meget tarvelige Oplysninger om Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, hvilket vil fremgaa af de følgende litterære Angivelser.

Hos Rees[1]) (1870) findes en summarisk Angivelse om Vegetationen hos Saccharomyces cerevisiæ, idet han siger: »Seine mittlere Vegetationstemperatur liegt zwischen + 8° und + 35° C; unter dem Gefrierpunkt, oft schon zwischen 0° und + 3° C, stellt er seine Vegetation ein oder reducirt sie auf ein Minimum.« Men hvorledes Rees er kommen til disse Angivelser, om ved egne eller ved andres Undersøgelser, og hvorledes disse have været anstillede, derom siges Intet. Følgelig kan man heller ikke lægge synderlig Vægt paa hans Angivelser, tilmed da Udtrykket »Vegetation« er aldeles ubestemt, og det er derfor forklarligt, at Mayer i sin Lehrbuch der Gährungschemie 1874 aldeles ikke anfører dem.

Hvad Mayer[2]) (1874) siger om dette Spørgsmaal er følgende: »Die günstigsten Vegetationstemperaturen, d. h. also auch Ver-

---

[1]) Rees: Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. 1870. p. 5.
[2]) Mayer: Lehrbuch d. Gährungschemie. 1874. p. 113.

gährungstemperaturen, sind natürlich noch mehr abhängig von der Art oder Unterart, um deren Kultur es sich handelt. Doch mag das Optimum im Allgemeinen, wie für viele andere vegetative Processe, um 25° C. oder gegen 30° C. liegen. Eine langsame Gährung und Hefevegetation erscheint noch bei sehr niedrigen Temperaturen möglich, und ich habe selbst noch Gährung in einen Raume, der sich dauernd unter 0° befand, wahrgenommen. Wahrscheinlich gilt dies indessen nur für die Unterhefevarietät, deren Optimum auch erheblich niedriger als das der Oberhefe zu liegen scheint. Ganz exakte Zahlen stehen uns für diese Behauptungen in den seltensten Fällen zur Verfügung, und so begnügen wir uns zweckmässig mit diesen lückenhaften Mittheilungen.» Som man ser, har Mayer lige saa lidt som Rees virkelige Undersøgelser at holde sig til. Naar han lægger Optimum hen til »um 25° C. oder gegen 30°«, saa er det ikke, fordi han har Iagttagelser herom, men kun fordi Optimum for mange andre vegetative Processer ligger ved denne Temperatur. En enkelt Iagttagelse findes dog i det anførte Stykke hos Mayer; han har nemlig selv iagttaget Gjæring i et Rum, hvor Temperaturen stadig var under 0°. Men fra Gjæring tør man ikke slutte til Gjærformering, og om denne har Mayer ingen Iagttgelse gjort.

Schützenberger[1]) (1876) anfører følgende om det foreliggende Spørgsmaal: »Sodann fragt es sich, bei welcher Temperatur die Alkoholgährung, also auch das Leben der Hefe, mit grösster Energie sich äussert. Am günstigsten scheint die Temperatur zwischen 25° und 30° zu wirken, wobei aber auch noch einigermaassen die Beschaffenheit des Mediums sowohl wie die des Ferments in Betrachtung kommen. Selbst in der Nähe des Nulpunktes hört die Alkoholbildung durch Hefe noch nicht vollständig auf.« Hvorledes Schützenberger er kommet til disse Angivelser, ser man ikke. Han anfører Dumas som Hjemmelsmand for det Afsnit af Bogen, der handler om fysiske og kemiske Agentiers Indflydelse paa Alkoholgjæringen, og hvoraf det citerede Stykke danner Begyndelsen. I det citerede Arbejde af Dumas (Ann. de chimie et de phys. 5 Ser. Tome 3. 1874) findes nu ganske vist alt, hvad Schützenberger anfører om Elektricitetens, Lysets og kemiske Agentiers Virkning paa Gjæringen, men der findes ikke et Ord om det, hvormed Afsnittet begynder, nemlig om Temperaturen. Hos Dumas findes altsaa ingen Iagttagelser til Støtte for Schützenbergers Angivelser. Da Optimum for Gjæring, »og altsaa ogsaa for Gjærcellens Liv«, er angivet som

[1]) Schützenberger: Die Gährungserscheinungen 1876 p. 144.

hos Mayer, nemlig til 25°—30°, turde det vel ikke være helt usandsynligt, at Schützenbergers Angivelse egentlig stammer fra Mayer, der jo dog, som vi have set, og som han jo da ogsaa selv tilstaar, ingen Iagttagelser havde at støtte sig til. I ethvert Tilfælde har Schützenberger ingen Undersøgelser om Varmens Virkning paa Gjærcellens Formering.

Virkelige Undersøgelser om det foreliggende Spørgsmaal ere altsaa vist nok aldrig anstillede.

Egne Undersøgelser.

1. Undersøgelsesmethode.

A. Bestemmelse af Gjærmængden.

Ved det her foreliggende Spørgsmaal gjælder det om at bestemme Gjærmængden paa forskjellige Tidspunkter af Gjæringsforløbet. Denne Bestemmelse kan tænkes udført paa forskjellig Maade.

a. Vejningsmethoden.

Jeg havde først tænkt paa at anvende Vejning til denne Bestemmelse, men har ved nøjere Overlæg opgivet Vejningsmethoden som ubrugelig til denne Undersøgelse. Ved Forsøg, jeg har foretaget over Luftningens Indflydelse paa Gjæringen, og ved hvilke Gjærbestemmelserne bleve udførte ved Vejningsmethoden (se S. 72), har jeg, ligesom andre, erkjendt de store Vanskeligheder og Mangler ved denne Methode, der i sin Tid bragte Pasteur til at antage, at Gjærmængden voxer under Gjæringen, medens den bragte Liebig til at antage, at den ikke voxer under samme. Jeg skal her fremhæve et Par af Vejningsmethodens Mangler. For at faa Gjæren fjærnet fra den gjærende Vædske, maa man anvende Filtrering. Men denne er vanskelig og langvarig, selv om den udføres ved Sugning, og navnlig er den vanskelig i Gjæringens Begyndelse, hvilket for den foreliggende Undersøgelse netop er særlig uheldigt, da man, for at kunne bestemme Gjærdannelsens Hastighed, maa afbryde Gjæringen paa et tidligt Stadium. Den langsomme Filtrering, ved hvilken der f. Ex. godt kan medgaa en halv Snes Timer til Filtrering af 1 Liter, medfører den Ulempe, at Gjærcellerne kunne vedblive at formere sig, medens Filtrationen foregaar, saa at den Gjærmængde, man faar paa Filtret, ikke er den, der havde dannet sig indtil det Tidspunkt, da man afbrød Forsøget, og altsaa heller ikke den, man ønskede at bestemme. Denne Fejl

kan dog formindskes meget betydeligt, naar man lader Filtrationen foregaa i et Isskab ved tilstrækkelig lav Temperatur. — En anden Fejl ved Vejningsmethoden bestaar deri, at man ikke finder Vægten af selve Gjærcellernes Masse. Hvis der i den gjærende Vædske findes andre uopløste Bestanddele end Gjærceller, saa kunne disse blive tilbage paa Filtret sammen med Gjærcellerne. Men selv om dette ikke er Tilfældet, faar man dog ikke Vægten af Gjærcellerne alene; thi en Del af Vædsken bliver hængende paa og imellem Gjærcellerne og i Filtret. Vilde man forsøge paa at fjærne denne Fejl ved Udvaskning med destilleret Vand, saa vilde man derved indføre en ny Fejl, idet man ved Udvaskningen vilde opløse og fjærne en Del af Gjærcellernes opløselige Bestanddele.

Men selv om man vilde se bort fra Fejlene ved Vejningsmethoden, kan den dog alligevel ikke anvendes ved videnskabelige Undersøgelser over Gjærcellernes Formering; thi ved disse Undersøgelser kommer det jo alene an paa Gjærcellernes Antal. Nu er Gjærens Vægt ikke blot afhængig af Antallet af Gjærceller, men ogsaa af den enkelte Gjærcelles Vægt. En større Gjærvægt kan følgelig lige saa godt være et Udtryk for de enkelte Gjærcellers Vægtforøgelse som for Gjærcellernes Formering. Kun hvis Gjærcellens Vægt var den samme under forskjellige Forhold og altsaa kunde betragtes som en konstant Størrelse, turde man betragte Gjærvægten som et Udtryk for Gjærcellernes Antal; men denne Forudsætning er man aldeles ikke berettiget til at gjøre.

b. Iagttagelse af en enkelt Gjærcelle.

Naar man overvejer, hvilke Methoder man muligen kunde anvende til Bestemmelse af Gjærcellernes Formering, kommer man naturligvis strax til at tænke paa den Methode, der i den nyere Tid især har været anvendt til Løsning af en Mængde mykologiske Spørgsmaal, nemlig Iagttagelse af en enkelt Celle. Til Løsning af det Spørgsmaal, hvor stor en Gjærmængde der danner sig under hele Forløbet af en Gjæring, kan denne Methode dog ikke anvendes. Derimod lader den sig ganske vist anvende ved Spørgsmaalet om Gjærcellernes Formeringshastighed. Ved de foreløbige Forsøg, jeg har anstillet med denne Methode, dels ved Hjælp af Geislerske Kamre, dels ved Hjælp af Ranvierske Kamre, dels ved simpelt hen uden om Næringsvædsken at danne en Ring af Olje paa et Objektglas og derpaa anbringe et Dækglas, har det vist sig, at Gjærcellerne have en meget stor individuel Forskjellighed med Hensyn til den Tid, der behøves til Dannelsen af en ny Generation, saaledes at man, for at faa sande Middeltal, maa iagttage særdeles mange Celler, hver for sig, og

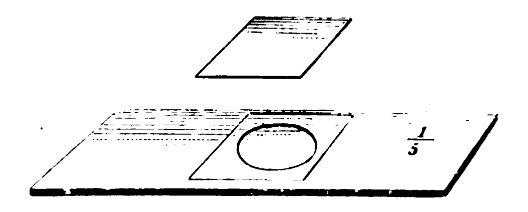
derved bliver Methoden meget besværlig og mindre heldig. Men til Afgjørelse af, om der under visse givne Forhold overhovedet finder Gjærcelleformering Sted eller ikke, vil denne Methode være fortrinlig.

c. Tællingsmethoden.

Da jeg talte med Hr. Prof. Panum om Vanskelighederne og Manglerne ved de her omtalte Methoder, henledte han min Opmærksomhed paa den i Dyrefysiologien anvendte, af Malassez angivne og af Hayem modificerede Methode til Tælling af Blodlegemerne i et bestemt Rumfang Blod, og han udtalte den Formodning, at denne Methode vist nok vilde være ligesaa anvendelig til Tælling af Gjærceller som til Tælling af Blodlegemer. Professor Panum overlod mig med den Forekommenhed, han altid viser mod yngre Videnskabsmænd, det Hayem-Nachetske Hæmatimeter tilligemed Beskrivelsen heraf. Ved de Forsøg, jeg anstillede hermed, viste det sig, at Methoden var særdeles god, og det er den, jeg har anvendt ved mine Undersøgelser. Jeg skal nu give en Beskrivelse af Tællingsmethoden, saaledes som jeg har uddannet og tillempet den til Brug ved Gjærundersøgelser.

Methoden gaar ud paa at tælle det Antal Gjærceller, der findes i et vist Rumfang af en Vædske, naar Gjærcellerne ere jævnt fordelte i den.

Apparatet, man anvender, bestaar i et Objektglas (*a*), hvortil er fastklæbet et Dækglas (*b*) af $^1/_5$ mm Tykkelse. Af Dækglasset



er et cirkelformigt Stykke skaaret ud. Derved faar man altsaa et lille kredsformigt Rum af $^1/_5$ mm. Højde. I dette Rum anbringes en Draabe af den Vædske, man vil undersøge, og et plant slebet, tykt Dækglas lægges over, hvorved man faar et Vædskelag, hvis Højde er $^1/_5$ mm.. Dette Vædskelag bliver ved Projektionen af et i Mikroskopets Okular indlagt Mikrometer[1]), der er inddelt i lige store kva-

[1]) Saadanne Netmikrometre og Objektglas med Kammer af $^1/_{10}$ mm. eller $^1/_5$ mm. Dybde findes anførte i Zeiss's Priskurant fra 1877 under Nr. 45 og 46.

dratiske Felter, afdelt i smaa Prismer, hvis Højde er $^1/_5$mm., og hvis Grundflade er Projektionen af et af Mikrometrets Kvadrater. Et saadant Vædskeprisme vil jeg i det følgende kalde en Rumfangsenhed, og det er det gjennemsnitlige Antal Gjærceller, der findes i et saadant, det kommer an paa at bestemme. Naar Gjærcellerne have en større Vægtfylde end den Vædske, hvori de findes — og dette vil sædvanlig være Tilfældet —, saa ville de efter nogle Minuters Forløb have sænket sig ned paa Objektglasset, og det Antal Gjærceller, der da ses i ethvert af Synsfeltets Kvadrater, er det Antal Gjærceller, der fandtes i den til dette Kvadrat svarende Rumfangsenhed. Naar man ved alle Undersøgelser bruger den samme Rumfangsenhed, saa er dennes absolute Størrelse ganske ligegyldig. Jeg har bestandig arbejdet med Hartnacks Objektiv VII, Okular III og med Tubus indskudt; Rumfangsenheden var da $\frac{1}{2000}$ Kub. Millimeter.

Fremgangsmaaden ved Gjærtællingen er da denne: Den Vædske, hvis Celleantal man vil undersøge, (eller en Prøve deraf) rystes meget stærkt for at tilvejebringe en jævn Fordeling af Gjærcellerne i Vædsken. Ved Hjælp af et Haarrør anbringes en Draabe paa Objektglasset; denne Draabe maa ikke være saa stor, at den fylder Objektglassets omtalte Fordybning eller Rum, hverken før eller efter at Dækglasset er lagt paa. Efterat Præparatet har ligget i Ro et Par Minuter paa Mikroskopets Objektbord, for at Gjærcellernes Sænkning kan foregaa, skrider man til Tælling af det Antal Celler, der findes i hvert af Synsfeltets Kvadrater. Før Tællingen begynder, drejer man Okularet saaledes, at Linierne i Synsfeltet kun gaa i Retningen Nord-Syd og Øst-Vest (disse Udtryk brugte saaledes, som de almindelig bruges, naar Talen er om Landkort eller om at bestemme Beliggenheden af Objekter i Mikroskopets Synsfelt). Man finder nu altid en Del Celler, der ikke ligge i Synsfeltets Kvadrater, men paa de Kvadraterne begrænsende Linier, saa at de lige saa godt kunne regnes til det ene som til det andet af to Nabokvadrater. Naar man i saadanne Tilfælde er konsekvent, kan det jo være ligegyldigt, hvilke Regler man følger. Jeg regner altid en Celle, der ligger paa en nordlig-sydlig Linie, til det vestlige Kvadrat, og en Celle paa en østlig-vestlig Linie til det sydlige Kvadrat. — Hvis Antallet af Celler i hvert Kvadrat er saa stort, at Tællingen ikke godt kan udføres med Nøjagtighed, maa man anvende Fortynding af Vædsken. Men man bør dog ikke fortynde mere end nødvendigt. Fortyndingens Grad maa selvfølgelig nøje bestemmes og tages med i Beregning,

naar man af det fundne Antal Celler i Rumfangsenheden af den fortyndede Vædske udregner Celleantallet i Rumfangsenheden af den ufortyndede Vædske. Da man ved denne Regning maa multiplicere det fundne Tal med Fortyndingstallet, hvorved en eventuel Fejl i det fundne Tal altsaa ogsaa bliver multipliceret, er det indlysende, at man ikke bør fortynde mere end nødvendigt. Hvis man har til sin Raadighed et lavere Objektglas med et kredsformigt Rum, saaledes at man faar en lavere Vædskesøjle f. Ex. paa $^1/_{10}$ mm., saa er maaske Fortyndingen overflødig. Fortyndingen udføres paa den Maade, at man efter stærk Rystning tager ved Hjælp af en Pipette en Kubikcentimeter af den Vædske, man vil undersøge, og kommer den i en lille Flaske. Til denne Kubikctm. Vædske sættes ved Hjælp af en Pipette et bekjendt Antal Kubikcentimetre af den Vædske, man anvender til Fortynding. Hertil kan anvendes Vand eller Urt. — Undertiden danne Gjærcellerne Klumper, som man ikke kan faa sprængte ved Rystning. Man maa da anvende Fortynding enten med Vand eller, hvad der i dette Tilfælde er bedre, med fortyndet Natronlud.

Tællingsmethodens Fejlgrænser. I hvor mange Felter man maa tælle Cellerne for at faa et sandt Middeltal, maa afgjøres efter de samme Regler, som anvendes ved andre statistiske Methoder, hvor man af en Række iagttagne Tal skal finde et sandt Middeltal. De Tal, hvoraf Middeltallene ere beregnede ved mine Undersøgelser, hidrøre altid fra flere Præparater og fra forskjellige Steder henimod Midten af samme Præparat. Tællingen er fortsat saa længe, indtil det viste sig, at endnu flere Tal vare uden væsentlig Indflydelse paa Middeltallet. Naar det successiv beregnede Middeltal stemmer overens i de hele Tal, er der ved disse Undersøgelser ingen Grund til at tage endnu flere Tal med. En saadan Overensstemmelse i de successsive Middeltal faar man allerede af færre end 50 Tal. Ved mine Forsøg ere Middeltallene udregnede af 50 eller af 100 Tal. For at vise, hvor nøjagtig Methoden er, skal jeg her exempelvis fra et af Forsøgene anføre Rækken af successive Middeltal, beregnet af 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 og 100 Tal, samt de successive Middeltals Afvigelser fra Hoved-Middeltallet.

De successive Middeltal:	Afvigelser fra Hoved-Middeltallet:
66 : 10 = 6,6.	0,18.
140 : 20 = 7,0.	0,58.
190 : 30 = 6,33.	0,09.
270 : 40 = 6,75.	0,33.

De successive Middeltal:	Afvigelser fra Hoved-Middeltallet.
329 : 50 = 6,58.	0,16.
392 : 60 = 6,53.	0,11.
435 : 70 = 6,21.	0,21.
513 : 80 = 6,41.	0,01.
583 : 90 = 6,47.	0,05.
642 : 100 = 6,42.	0,00.

B. Tilvejebringelse af konstante Varmegrader.

For at kunne undersøge Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, maa man have Rum med forskjellige, konstante Varmegrader til sin Raadighed. For at tilvejebringe disse ere thermostatiske Apparater nødvendige. Af de mig bekjendte Apparater for konstante Varmegraders Tilvejebringelse er det af Panum konstruerede thermostatiske Apparat det bedste. Dette har været benyttet ved disse Undersøgelser. Man har i det en Række af lukkede Rum, hvert med sin konstante Temperatur. Apparatet er opstillet i et Værelse, hvor Sollyset kan holdes ude ved Hjælp af forskydelige Træskodder for Vinduerne, der vende mod Nord og Øst. Den gjærende Vædske stilles ind i de Rum, hvori de ønskede Varmegrader haves.

Prof. Panum har velvilligst overladt mig følgende Afbildning og Beskrivelse af hans i et endnu ikke udkommet Hefte af Nordisk medic. Arkiv (Bd. 10, Nr. 4) omtalte thermostatiske Apparat. Han siger:

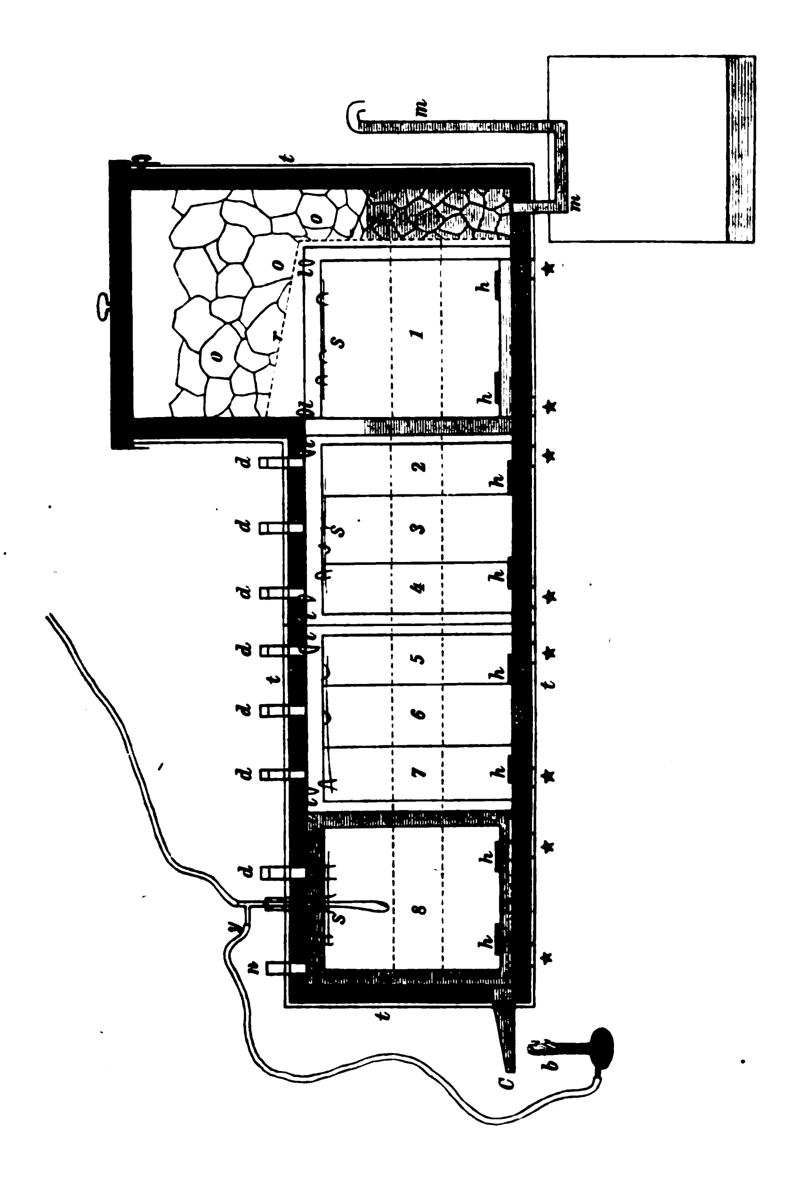
»For at kunne vedligeholde en bestemt Temperatur under Opbevaringen af Substanser, som kunne gaa i Gjæring, og under Udviklingen af mikroskopiske Organismer, har jeg indrettet et Slags Thermostat, ved Hjælp af hvilken jeg stadig kan raade over flere konstante Temperaturgrader, lige fra nogle og fyrretyve Grader Celsius indtil en Temperatur, som kun ligger lidt over Frysepunktet, hvorved man saa at sige raader over et tropisk Klima, et Polarklima og flere forskjellige tempererede Klimater.

Det første, mindre og ufuldkomnere Apparat af denne Art har jeg indrettet i Universitetets fysiologiske Laboratorium. Et større og i flere Henseender forbedret, men langt kostbarere, Apparat findes nu i Carlsberg Laboratoriet.

Sammes Indretning anskueliggjøres ved Afbildningen.

Rummet 8 er en dobbelt Kasse af Kobber, som i Carlsberg Laboratoriet har en Højde, Bredde og Dybde af en Alen. Rummet *aa* imellem den udvendige og den indvendige Kobberkasse er fyldt med

Vand, hvis Temperatur ved Hjælp af en Gasflamme (*b*), der reguleres efter det af Bunsen angivne Princip (*y.s*), holdes konstant paa c. 40° C. Den selv regulerende Gaslampe er anbragt under en vingeformig



Forlængelse (*c*) af den Vandbeholder (*aa*), som dannes af Mellemrummet imellem den indvendige og udvendige Kobberkasse. Beholderens Fyldning med Vand sker igjennem et foroven anbragt

Rør (*n*), og det kan aftappes ved Hjælp af en paa den vingeformige Udvidelse anbragt, men i Tegningen ikke angivet Hane. For at den vingeformige Udvidelse skal kunne repareres og renses for Kjedelsten, er den foroven lukket ved en paaloddet Plade, som kan aftages ved Hjælp af en Loddebolt, naturligvis efter at Vandet er aftappet. Til Forfærdigelsen af denne dobbelte Kasse er det bedst at tage Kobber, og det er paa Grund af det betydelige Vandtryk paa de store Vægge nødvendigt, at de to Kassers Vægge afstives ved Hjælp af korsformige, paa Højkant stillede Metalplader, som forbinde dem indbyrdes og forhindre den Udvidelse af Rummet imellem Kasserne, som ellers vilde bevirkes ved Vandtrykket, hvorved den inderste Kasse vilde bugtes indadtil, medens den yderste bugter sig udad. Det er hensigtsmæssigt, at man, efter at den tilsigtede Varmegrad omtrent er naaet, hælder Olie i det Rør, hvorigjennem Vandet er fyldt paa, for at forhindre Vandets Fordampning. Paa den modsatte Ende af Thermostaten er anbragt en Iskasse (1) af lignende Dimension som Varmerummet (8). Denne Iskasse kan være forfærdiget af fortinnet stærkt Jernblik. Den bestaar af en indvendig Kasse, som med sin Bagvæg er forbundet med den ydre Kasse, der tjener til at optage Isen (*oo*). Den indvendige Kasse er ved en Rist (*r*) af temmelig tykke Jernstænger beskyttet imod Beskadigelse ved Isens Paafyldning ovenfra. Isen bedækker den indre Kasse foroven helt, og det er hensigtsmæssigt ogsaa at lade den gaa ned imellem den indre og den ydre Kasses udvendige Sidevæg. Det af Isen smeltende Vand kan rinde ned over den indvendige Kasses Bagvæg og indvendige (d. e. til Rummet 2 stødende) Sidevæg, og det har Afløb ved hele Apparatets Udkant igjennem en Vandlaas (*mm*), hvis Afløb, saafremt Isen naaer ned til Bunden, hensigtsmæssigt kan anbringes saa højt, at den hele nederste Del af den indvendige Kasse er omgivet af iskoldt Vand. Saafremt Isen imidlertid kun foroven bedækker den indvendige Kasse, er det naturligvis ikke nyttigt, men tvertimod skadeligt, at anbringe Vandlaasens Afløb saa højt, at det smeltede Vands hurtige Afløb forhindres. Imellem disse to store Rum, paa den ene Side Varmerummet (8) og paa den anden Side Iskassen (1), er anbragt en af fortinnet Jernblik forfærdiget lang Kasse (2—7), som paa den ene Ende er skruet fast til Varmtvandsbeholderen og paa den anden Ende til Isbeholderen, og som ved Skillevægge af Metalblik er delt i saa mange Rum, som man ønsker at faa konstante Temperaturgrader, der danne en Skala imellem c. 40 og c. 2^0 C. Saavel alle disse Rum, som Varmtvandsbeholderens og Isbeholderens udvendige Kasser ere foroven, forneden, paa Bagsiden og ved begge Enderne omgivne

med en meget slet Varmeleder, nemlig med saakaldt Kradsuld (*uu*), og yderst med en tæt Trækasse (*tt*), saaledes at Kradsulden aldeles opfylder Rummet imellem hele den sammensatte Metalkasses Udside og Trækassens Indside, paa alle Sider undtagen fortil. Fortil lukkes Varmekassen med en, og Iskassen med en anden, tæt sluttende Blikdør, hvis Hængsler (*hh*) ere anbragte forneden, og som foroven kan lukkes med en Skodde (*s*). 2 eller 3 lignende Døre lukke for de mellemliggende Rum, saaledes at en fælles Dør lukker for flere (2—4) af disse Rum. Tilsvarende, meget tæt sluttende Døre ere ogsaa anbragte paa Trækassen (*tttt*), og Indsiden af disse Døre er beklædt med Uldtøj og stoppet med en Pude af Uld. Derhos gribe Trædørene med Lister over hinanden, saaledes, at Kassen fortil kan lukkes saa tæt som mulig. Trædørene have naturligvis ligesom Blikdørene Hængsler ($_{**}$) forneden og Laas og Lukke (*ll*) foroven, og Hængslerne ere anbragte saaledes, at de tillige med Blikdørene, naar de ere aabnede, danne et Slags Bord, hvorpaa man foreløbig kan stille de Apparater, som skulle stilles ind i eller tages ud af Rummene. Naar Dørene alle ere lukkede, saa maa den væsentlige Varmeudjævning imellem Varmekassen paa den ene og Iskassen paa den anden Side foregaa igjennem de af Metalblik dannede Skillevægge, og herved opnaas naturligvis en jævn og forskjellig graderet Temperatur i de forskjellige Rum, omtrent ens for Sommer og Vinter, Dag og Nat. Fluktuationerne overstige, naar man skjænker Regulationen den fornødne Opmærksomhed, næppe 1 eller højst et Par Grader. Temperaturen i de forskjellige Rum bestemmes lettest og bedst ved Hjælp af smaa Thermometre, som, et i hvert Rum, ere anbragte i med Olie fyldte Glas, for at man kan aflæse den Temperatur, som er tilstede i Rummet, naar Dørene holdes lukkede, uden at Observationen af denne Temperatur forstyrres derved, at Døren aabnes i nogen Tid, eftersom Olien er en meget slet Varmeleder. Denne Maade, at bestemme Temperaturen paa, er ikke blot bekvemmere, men ogsaa paalideligere end den Varmebestemmelse, som man kan foretage ved at anbringe et Thermometer i et forresten med en gjennemboret Prop lukket Rør (*d*), som er anbragt i Loftet af hvert enkelt Rum. Thi herved kan Temperaturen kun bestemmes paa et enkelt Sted i Varmekassen. Men der er altid nogen Forskjel i Temperaturen i den øverste og i den underste Del af hvert Rum, og denne Forskjel kan man let bestemme ved Hjælp af de smaa Thermometre, som, med Kuglen nedsænkede i Olie, ere anbragte i Rummene, og som tillige med de Substanser, der skulle observeres, kunne stilles paa en bestemt af de i alle Rummene anbragte løse Hylder. Hele Thermostaten er anbragt paa et Bord af passende Højde, og den

stige over; man maa da for en Tid fjerne Lampen og, ved at blæse paa Retorten, søge at holde Skummet nede; af samme Grund bør Retorthalsen vise opad. En lille Tilsætning af Tannin efter Mohrs Forslag hjælper ogsaa godt derpaa. Da Øllet altid indeholder en ringe Mængde flygtig Syre, tilsætter man ligeledes i Retorten en til dens Mætning tilstrækkelig Mængde Kalkvand. Afkølingen skete i et Slange-Svalerør, der ved en kort Slange af sort Gummi var forbundet med Retorten. Forlaget, en lille forud vejet Kolbe paa omtrent 100 Kub. Cent., stilledes i et Bægerglas med Is, hvad der ikke bør forsømmes, naar man arbejder i et varmt Værelse. Destillatet havde ingen ren Vinaandlugt, men en mere eller mindre stærk fuselagtig, og det kunde ikke undgaa Opmærksomheden, at der i saa Henseende var en betydelig Forskjel ved de forskjellige Ølsorter. Destillatets Vægt, der var omtrent $^2/_3$ af den anvendte Vædskes, blev i Regelen ved Tilsætning af Vand bragt op til dennes Vægt, Vægtfylden blev bestemt med Pyknometret ved 14^0 R., og den tilsvarende P_Σ opsøgt i de for 14^0 R omregnede Fownesske Tabeller. I Almindelighed er hver Vinaandbestemmelse et Middeltal af to meget nær overensstemmende Destillationsforsøg.

Vægtfylden af Øllet og det kogte Øl bestemtes ligeledes med Pyknometret ved 14^0 R.

Ved hver Ølsort er tillige opført Resultatet af den saccharometriske Analyse, beregnet efter Balling; den giver Oplysning om Mængden af Extrakt og Vinaand i Øllet, den oprindelige Urts Styrke og Forgjæringsgraden, saavel den virkelige, som den tilsyneladende:

Nr. 1. Carlsberg Lagerøl.

s = 1,0130.
S = 1,0203.

Vinaand, ved Destillation		=	4,00 %.
—	efter Korschelt	=	3,97 -
—	- Reischauer	=	3,93 -
—	- Balling	=	4,06 -
—	- Otto	=	4,04 -
—	- Zenneck	=	4,12 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,250.
n = 5,075.

Vinaand	= 4,06 %.
Extrakt	= 5,08 -
Vand	= 90,86 -
	100,00.

Urtens Styrke = 12,91 %.
Forgjæring, virkelig = 61.
— tilsynel. = 75.

Nr. 2. Samme Ølsort.

s = 1,0115.
S = 1,0190.

Vinaand, ved Destillation = 4,06 %.
— efter Korschelt = 4,09 -
— - Reischauer = 4,08 -
— - Balling = 4,17 -
— - Otto = 4,16 -
— - Zenneck = 4,25 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 2,875.
n = 4,750.

Vinaand = 4,17 %.
Extrakt = 4,75 -
Vand = 91,08 -

100,00.

Urtens Styrke = 12,80 %.
Forgjæring, virkelig = 63.
— tilsynel. = 77,5.

Nr. 3. Carlsberg Beer.

s = 1,0161.
S = 1,0251.

Vinaand, ved Destillation = 5,01 %.
— efter Korschelt = 4,96 -
— - Reischauer = 4,94 -
— - Balling = 5,00 -
— - Otto = 5,06 -
— - Zenneck = 5,20 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 4,025.
n = 6,268.

Vinaand = 5,00 %.
Extrakt = 6,27 -
Vand = 88,73 -

100,00.

Urtens Styrke = 15,78 %.
Forgjæring, virkelig = 60.
— tilsynel. = 74,5.

Nr. 4. Samme Ølsort.

s = 1,0159.
S = 1,0249.

Vinaand,	ved Destillation	=	5,00 %.
—	efter Korschelt	=	4,95 -
—	- Reischauer	=	4,93 -
—	- Balling	=	5,01 -
—	- Otto	=	5,05 -
—	- Zenneck	=	5,20 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,975.
n = 6,219.

Vinaand = 5,01 %.
Extrakt = 6,22 -
Vand = 88,77 -

100,00.

Urtens Styrke = 15,74 %.
Forgjæring, virkelig = 60,5.
— tilsynel. = 75.

Nr. 5. Carlsberg Double Brown Stout.

s = 1,0277.
S = 1,0357.

Vinaand,	ved Destillation	=	4,29 %.
—	efter Korschelt	=	4.26 -
—	- Reischauer	=	4,24 -
—	- Balling	=	4,35 -
—	- Otto	=	4,39 -
—	- Zenneck	=	4,57 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 6,901.
n = 8,853.

Vinaand = 4,35 %.
Extrakt = 8,85 -
Vand = 86,80 -

100,00.

Urtens Styrke = $17{,}_{05}$ %.
Forgjæring, virkelig = 48.
— tilsynel. = 60.

Nr. 6. Tuborg Øl.

$s = 1{,}_{0177}$.
$S = 1{,}_{0260}$.

Vinaand, ved Destillation = $4{,}_{47}$ %.
— efter Korschelt = $4{,}_{52}$ -
— - Reischauer = $4{,}_{51}$ -
— - Balling = $4{,}_{59}$ -
— - Otto = $4{,}_{62}$ -
— - Zenneck = $4{,}_{75}$ -

Saccharometrisk Analyse:

$m = 4{,}_{425}$.
$n = 6{,}_{488}$.

Vinaand = $4{,}_{59}$ %.
Extrakt = $6{,}_{49}$ -
Vand = $88{,}_{82}$ -

$100{,}_{00}$.

Urtens Styrke = $15{,}_{23}$ %.
Forgjæring, virkelig = $57{,}_{5}$.
— tilsynel. = 72.

Nr. 7. Tuborg Lagerøl.

$s = 1{,}_{0158}$.
$S = 1{,}_{0233}$.

Vinaand, ved Destillation = $4{,}_{09}$ %.
— efter Korschelt = $4{,}_{07}$ -
— - Reischauer = $4{,}_{06}$ -
— - Balling = $4{,}_{17}$ -
— - Otto = $4{,}_{15}$ -
— - Zenneck = $4{,}_{25}$ -

Saccharometrisk Analyse:

$m = 3{,}_{950}$.
$n = 5{,}_{825}$.

Vinaand = $4{,}_{17}$ %.
Extrakt = $5{,}_{83}$ -
Vand = $90{,}_{00}$ -

$100{,}_{00}$.

Urtens Styrke = 13,84 %.
Forgjæring, virkelig = 58.
— tilsynel. = 72.

Nr. 8. Albani Lagerøl.

s = 1,0212.
S = 1,0281.

Vinaand, ved	Destillation	= 3,78	%.
— efter	Korschelt	= 3,66	-
— -	Reischauer	= 3,68	-
— -	Balling	= 3,78	-
— -	Otto	= 3,77	-
— -	Zenneck	= 3,89	-

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,300.
n = 7,000.

Vinaand = 3,78 %.
Extrakt = 7,00 -
Vand = 89,22 -

100,00.

Urtens Styrke = 14,24 %.
Forgjæring, virkelig = 51.
— tilsynel. = 63.

Nr. 9. Svanholm Lagerøl.

s = 1,0148.
S = 1,0226.

Vinaand, ved	Destillation	= 4,28	%.
— efter	Korschelt	= 4,25	-
— -	Reischauer	= 4,23	-
— -	Balling	= 4,35	-
— -	Otto	= 4,32	-
— -	Zenneck	= 4,44	-

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,700.
n = 5,650.

Vinaand = 4,35 %.
Extrakt = 5,65 -
Vand = 90,00 -

100,00.

Urtens Styrke = 13,98 %.
Forgjæring, virkelig = 59,5.
— tilsynel. = 73,5.

Nr. 10. Thüringer Bier.

s = 1,0162.
S = 1,0242.

Vinaand, ved Destillation = 4,41 %.
— efter Korschelt = 4,35 -
— - Reischauer = 4,34 -
— - Balling = 4,49 -
— - Otto = 4,44 -
— - Zenneck = 4,57 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 4,050.
n = 6,048.

Vinaand = 4,49 %.
Extrakt = 6,05 -
Vand = 89,46 -

100,00.

Urtens Styrke = 14,55 %.
Forgjæring, virkelig = 58.
— tilsynel. = 72.

Nr. 11. Pale Ale, Bass & Co.

s = 1,0211.
S = 1,0336.

Vinaand, ved Destillation = 7,19 %.
— efter Korschelt = 7,02 -
— - Reischauer = 6,97 -
— - Balling = 6,88 -
— - Otto = 7,20 -
— - Zenneck = 7,48 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,275.
n = 8,341.

Vinaand = 6,88 %.
Extrakt = 8,34 -
Vand = 84,78 -

100,00.

Urtens Styrke = 21,01 %.
Forgjæring, virkelig = 60.
— tilsynel. = 75.

Nr. 12. Bock Ale, Strasbourg.

s = 1,0145.
S = 1,0237.

Vinaand, ved Destillation	=	5,05 %.
— efter Korschelt	=	5,08 -
— - Reischauer	=	5,07 -
— - Balling	=	5,13 -
— - Otto	=	5,19 -
— - Zenneck	=	5,32 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,625.
n = 5,925.

Vinaand	=	5,13 %.
Extrakt	=	5,93 -
Vand	=	88,94 -
		100,00.

Urtens Styrke = 15,68 %.
Forgjæring, virkelig = 62.
— tilsynel. = 77.

Nr. 13. Extra Stout, Bass & Co.

s = 1,0241.
S = 1,0374.

Vinaand, ved Destillation	=	7,57 %.
— efter Korschelt	=	7,47 -
— - Reischauer	=	7,43 -
— - Balling	=	7,28 -
— - Otto	=	7,70 -
— - Zenneck	=	8,03 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 6,024.
n = 9,268.

Vinaand	=	7,28 %.
Extrakt	=	9,27 -
Vand	=	83,45 -
		100,00.

Urtens Styrke = 22,59 %.
Forgjæring, virkelig = 59.
— tilsynel. = 73.

Nr. 14. Imperial Stout, Bass & Co.

s = 1,0052.
S = 1,0178.

Vinaand,	ved	Destillation	= 7,07 %.
—	efter	Korschelt	= 6,98 -
—	-	Reischauer	= 6,95 -
—	-	Balling	= 6,73 -
—	-	Otto	= 7,06 -
—	-	Zenneck	= 7,21 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 1,300.
n = 4,325.

Vinaand = 6,73 %.
Extrakt = 4,33 -
Vand = 88,94 -

100,00.

Urtens Styrke = 17,02 %.
Forgjæring, virkelig = 75.
— tilsynel. = 92,5.

Nr. 15. Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri A.

s = 1,0627.
S = 1,0665.

Vinaand,	ved	Destillation	= 1,84 %.
—	efter	Korschelt	= 1,84 -
—	-	Reischauer	= 1,82 -
—	-	Balling	= 1,98 -
—	-	Otto	= 1,94 -
—	-	Zenneck	= 2,08 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 15,302.
n = 16,186.

Vinaand = 1,98 %.
Extrakt = 16,19 -
Vand = 81,83 -

100,00.

Urtens Styrke = 19,87 %.
Forgjæring, virkelig = 18,5
— tilsynel. = 23.

Nr. 16. Bittert Øl, fra samme.

s = 1,0375.
S = 1,0407.

Vinaand, ved Destillation = 1,59 %.
— efter Korschelt = 1,60 -
— - Reischauer = 1,60 -
— - Balling = 1,78 -
— - Otto = 1,66 -
— - Zenneck = 1,73 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 9,292.
n = 10,071.

Vinaand = 1,73 %.
Extrakt = 10,07 -
Vand = 88,20 -
100,00.

Urtens Styrke = 13,40 %.
Forgjæring, virkelig = 25.
— tilsynel. = 30,05.

Nr. 17. Prima Hvidtøl, fra samme.

s = 1,0382.
S = 1,0397.

Vinaand, ved Destillation = 0,68 %.
— efter Korschelt = 0,75 -
— - Reischauer = 0,74 -
— - Balling = 0,81 -
— - Otto = 0,77 -
— - Zenneck = 0,81 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 9,463.
n = 9,828.

Vinaand = 0,81 %.
Extrakt = 9,83 -
Vand = 89,36 -
100,00.

Urtens Styrke = 11,41 %.
Forgjæring, virkelig = 14.
— tilsynel. = 17.

Nr. 18. Hvidtøl Nr. 1, fra samme.

s = 1,0304.
S = 1,0321.

Vinaand, ved Destillation = 0,82 %.
— efter Korschelt = 0,87 -
— - Reischauer = 0,87 -
— - Balling = 0,92 -
— - Otto = 0,89 -
— - Zenneck = 0,92 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 7,560.
n = 7,975.

Vinaand = 0,92 %.
Extrakt = 7,98 -
Vand = 91,10 -
100,00.

Urtens Styrke = 9,78 %.
Forgjæring, virkelig = 18.
— tilsynel. = 23.

Nr. 19. Hvidtøl Nr. 2, fra samme.

s = 1,0237.
S = 1,0251.

Vinaand, ved Destillation = 0,79 %.
— efter Korschelt = 0,72 -
— - Reischauer = 0,71 -
— - Balling = 0,76 -
— - Otto = 0,73 -
— - Zenneck = 0,75 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 5,925.
n = 6,268.

Vinaand = 0,76 %.
Extrakt = 6,27 -
Vand = 92,97 -
100,00.

Urtens Styrke = 7,77 %.
Forgjæring, virkelig = 19.
— tilsynel. = 23,5.

Nr. 20. Skibsøl, fra samme.

s = 1,0140.
S = 1,0154.

Vinaand, ved Destillation = 0,67 %.
— efter Korschelt = 0,73 -
— - Reischauer = 0,73 -
— - Balling = 0,77 -
— - Otto = 0,74 -
— - Zenneck = 0,75 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 3,500.
n = 3,850.

Vinaand = 0,77 %.
Extrakt = 3,85 -
Vand = 95,38 -
100,00.

Urtens Styrke = 5,43 %.
Forgjæring, virkelig = 28,5.
— tilsynel. = 36.

Nr. 21. Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.

s = 1,0622.
S = 1,0652.

Vinaand, ved Destillation = 1,45 %.
— efter Korschelt = 1,43 -
— - Reischauer = 1,43 -
— - Balling = 1,57 -
— - Otto = 1,52 -
— - Zenneck = 1,62 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 15,186.
n = 15,883.

Vinaand = 1,57 %.
Extrakt = 15,88 -
Vand = 82,55 -
100,00.

Urtens Styrke = $18,_{80}$ %.
Forgjæring, virkelig = $15,_{5}$.
— tilsynel. = 19.

Nr. 22. Maltextrakt, fra samme.

s = $1,_{0618}$.
S = $1,_{0660}$.

Vinaand, ved Destillation = $2,_{02}$ %.
— efter Korschelt = $2,_{04}$ -
— - Reischauer = $2,_{04}$ -
— - Balling = $2,_{20}$ -
— - Otto = $2,_{17}$ -
— - Zenneck = $2,_{31}$ -

Saccharometrisk Analyse:

m = $15,_{093}$.
n = $16,_{070}$.

Vinaand = $2,_{20}$ %.
Extrakt = $16,_{07}$ -
Vand = $81,_{73}$ -
$100,_{00}$.

Urtens Styrke = $20,_{14}$ %.
Forgjæring, virkelig = 20.
— tilsynel. = 25.

Nr. 23. Prima Hvidtøl, fra samme.

s = $1,_{0370}$.
S = $1,_{0390}$.

Vinaand, ved Destillation = $1,_{06}$ %.
— efter Korschelt = $1,_{00}$ -
— - Reischauer = $0,_{99}$ -
— - Balling = $1,_{08}$ -
— - Otto = $1,_{03}$ -
— - Zenneck = $1,_{08}$ -

Saccharometrisk Analyse:

m = $9,_{170}$.
n = $9,_{657}$.

Vinaand = $1,_{08}$ %.
Extrakt = $9,_{66}$ -
Vand = $89,_{26}$ -
$100,_{00}$.

Urtens Styrke	=	11,76 %.
Forgjæring, virkelig	=	18.
— tilsynel.	=	22.

Nr. 24. Hoff's Maltextrakt.

s = 1,0278.
S = 1,0347.

Vinaand, ved Destillation	=	3,75 %.
— efter Korschelt	=	3,68 -
— - Reischauer	=	3,62 -
— - Balling	=	3,76 -
— - Otto	=	3,75 -
— - Zenneck	=	3,89 -

Saccharometrisk Analyse:

m = 6,925.
n = 8,609.

Vinaand	=	3,76 %.
Extrakt	=	8,61 -
Vand	=	87,63 -
		100,00.

Urtens Styrke	=	15,75 %.
Forgjæring, virkelig	=	45.
— tilsynel.	=	56.

For lettere Oversigts Skyld ere disse Analyser og Beregninger sammenstillede i omstaaende Tabel. Værdierne af s, S, m og n, der i de foranstaaende Analyser ere medtagne, for at Enhver ved Hjælp deraf kan kontrollere Rigtigheden af de med dem udførte Beregninger, ere i Tabellen udeladte.

Nr.	Ølsort.	Vinaand ved Destillation.	Vinaand efter Korschelt.	Vinaand efter Reischauer.	Vinaand efter Balling.	Vinaand efter Otto.	Vinaand efter Zenneck.	Saccharometrisk Analyse: Vinaand.	Extrakt.	Vand.	Urtens Styrke.	Forgjæring, virkelig.	Forgjæring, tilsynelad.	Ølsort.	Nr.
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%				
1	Carlsberg Lagerøl.	4,00	3,97	3,93	4,06	4,04	4,12	4,06	5,08	90,86	12,91	61	75	Carlsberg Lagerøl.	1
2	Samme Ølsort.	4,06	4,09	4,08	4,17	4,16	4,25	4,17	4,75	91,08	12,80	63	77,5	Samme Ølsort.	2
3	Carlsberg Beer.	5,01	4,96	4,94	5,00	5,06	5,20	5,00	6,27	88,72	15,78	60	74,5	Carlsberg Beer.	3
4	Samme Ølsort.	5,00	4,95	4,93	5,01	5,05	5,20	5,01	6,22	88,77	15,74	60,5	75	Samme Ølsort.	4
5	Carlsberg Double Brown Stout.	4,29	4,26	4,24	4,35	4,39	4,57	4,35	8,85	86,80	17,05	48	60	Carlsberg Double Brown Stout	5
6	Tuborg Øl.	4,47	4,52	4,51	4,59	4,62	4,75	4,59	6,49	88,82	15,23	57,5	72	Tuborg Øl.	6
7	Tuborg Lagerøl.	4,09	4,07	4,06	4,17	4,15	4,25	4,17	5,83	90,00	13,84	58	72	Tuborg Lagerøl.	7
8	Albani Lagerøl.	3,73	3,66	3,68	3,78	3,77	3,89	3,78	7,00	89,22	14,24	51	63	Albani Lagerøl.	8
9	Svanholm Lagerøl.	4,23	4,25	4,23	4,35	4,32	4,44	4,35	5,65	90,00	13,98	59,5	73,5	Svanholm Lagerøl.	9
10	Thüringer Bier.	4,41	4,35	4,34	4,49	4,44	4,57	4,49	6,05	89,46	14,55	58	72	Thüringer Bier.	10
11	Pale Ale, Bass & Co.	7,19	7,02	6,97	6,88	7,20	7,46	6,88	8,34	84,78	21,01	60	75	Pale Ale, Bass & Co.	11
12	Bock Ale, Strasbourg.	5,05	5,08	5,07	5,13	5,19	5,32	5,13	5,93	88,94	15,68	62	77	Bock Ale, Strasbourg.	12

Nr.	Ølsort.	Vinaand ved Destillation.	Vinaand efter Korschelt.	Vinaand efter Reischauer.	Vinaand efter Balling.	Vinaand efter Otto.	Vinaand efter Zenneck.	Saccharometrisk Analyse. Vinaand.	Extrakt.	Vand.	Urtens Styrke.	Forgjæring, virkelig.	Forgjæring, tilsynelad.	Ølsort.	Nr.
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%				
13	Extra Stout, Bass & Co.	7,57	7,47	7,43	7,28	7,70	8,03	7,28	9,27	83,45	22,59	59	73	Extra Stout, Bass & Co.	13
14	Imperial Stout, Bass & Co.	7,07	6,98	6,95	6,73	7,06	7,21	6,73	4,33	88,94	17,02	75	92,5	Imperial Stout, Bass & Co.	14
15	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri A.	1,84	1,84	1,82	1,98	1,94	2,08	1,98	16,19	81,83	19,87	18,5	23	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri A.	15
16	BittertØl, fra samme.	1,59	1,60	1,60	1,73	1,66	1,73	1,73	10,07	88,20	13,40	25	30	BittertØl, fra samme.	16
17	Prima Hvidtøl, fra samme.	0,68	0,75	0,74	0,81	0,77	0,81	0,81	9,83	89,36	11,41	14	17	Prima Hvidtøl, fra samme.	17
18	Hvidtøl Nr. 1, fra samme.	0,82	0,87	0,87	0,92	0,89	0,92	0,92	7,98	91,10	9,78	18	23	Hvidtøl Nr. 1, fra samme.	18
19	Hvidtøl Nr. 2, fra samme.	0,79	0,72	0,71	0,76	0,73	0,75	0,76	6,27	92,97	7,77	19	23,5	Hvidtøl Nr. 2, fra samme.	19
20	Skibsøl, fra samme.	0,67	0,73	0,73	0,77	0,74	0,75	0,77	3,85	95,38	5,43	28,5	36	Skibsøl, fra samme.	20
21	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.	1,45	1,43	1,43	1,57	1,52	1,62	1,57	15,88	82,55	18,80	15,5	19	Sødt Dobbeltøl, fra Hvidtølbryggeri B.	21
22	Maltextrakt, fra samme.	2,02	2,04	2,04	2,20	2,17	2,31	2,20	16,07	81,73	20,14	20	25	Maltextrakt, fra samme.	22
23	Prima Hvidtøl, fra samme.	1,06	1,00	0,99	1,08	1,03	1,08	1,08	9,66	89,26	11,76	18	22	Prima Hvidtøl, fra samme.	23
24	Hoff's Maltextrakt.	3,75	3,63	3,62	3,76	3,75	3,89	3,76	8,61	87,63	15,75	45	56	Hoff's Maltextrakt.	24

Ved at sammenligne disse Tal, vil man se: at Korschelts og Reischauers Formler sjælden give Anledning til kjendelige Differenser; — at de direkte Bestemmelser i de fleste Tilfælde stemme lidt bedre med Korschelts Formler end med Reischauers og almindelig falde meget nær ved de ved disse Beregninger fundne Tal, men at dette dog ikke gjælder uden Undtagelse, idet enkelte Analyser have givet forholdsvis betydelige Afvigelser (Nr. 11, 13, 14, 24); — at Ballings Beregningsmaade i Almindelighed angiver Vinaandmængden kjendelig for høj, men at der dog ogsaa kan findes enkelte Exempler paa det Modsatte (Nr. 11, 13, 14); — at Ottos og navnlig Zennecks Formler ligeledes angive Vinaandmængden for høj; og — at Afvigelser fra de nævnte Regler især forekomme ved Ølsorter af meget betydelig Styrke eller Forgjæring eller anden ualmindelig Beskaffenhed.

Reischauers Formler, der angive Vinaandmængden med en Nøjagtighed, der for Praxis er fuldkommen tilstrækkelig, og som udmærke sig fremfor Korschelts ved den liden Regning, som dermed er forbunden, maa anses for de bedste til praktisk Brug.

De Afvigelser, som den direkte Bestemmelse hist og her viser fra Reischauers og Korschelts Formler, pege hen paa, at der er Forhold, som ikke ere tagne i Betragtning ved deres Udledning. Her skal saaledes blot nævnes, at, naar Extraktmængden i det kogte Øl sættes lig Extraktmængden i det oprindelige, da er dette ikke ganske rigtigt, eftersom en lille Del deraf er udskilt under Kogningen og filtreret fra. Tilmed er denne Udskilning meget forskjellig ved de forskjellige Ølsorter. Ved at tage Hensyn hertil, kunde det maaske lykkes at faa en fuldstændigere Overensstemmelse, men ved at medtage en slig Bestemmelse, vilde den indirekte Analyse blive langt vidtløftigere end en Destillationsprøve og følgelig være meningsløs.

Beretning

om

de i Carlsberg Laboratoriets fysiologiske Afdeling udførte Arbejder,

fra Juli 1876 til Slutningen af Juli 1877.

Af

Rasmus Pedersen.

I.

Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa Formeringen af Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ.

Det synes, at der hidtil ikke har været anstillet nærmere Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa den Hurtighed, hvormed Gjærcellerne formere sig, i det mindste har jeg forgjæves søgt efter saadanne Undersøgelser i Litteraturen. Om den Gjærmængde, der danner sig under hele Forløbet af en Gjæring — et Spørgsmaal, der rigtignok staar i nogen Forbindelse med det ovennævnte om Gjærcellernes Formeringshastighed, men med hvilket det dog ingenlunde falder sammen — haves vel Undersøgelser, saaledes f. Ex. af Pasteur og Mayer, men disse Undersøgelser ere dog i mange Henseender højst mangelfulde og have ikke sjælden givet Resultater, der staa i aabenbar Strid med Praxis og med almindelige fysiologiske Grundsætninger. Der turde derfor være god Grund til at anstille nye Undersøgelser saa vel over det ene som over det andet af disse Spørgsmaal. Ved Undersøgelserne over forskjellige Stoffers gjæringshæmmende og gjæringsvækkende Virkninger har man næsten aldrig spurgt, om disse Virkninger skyldes en Indvirkning paa Gjærcellernes Formering, eller om de skyldes en Indvirkning paa deres Fermentevne (deres Stofskifte): der

er ikke spurgt, om et hæmmet (eller paaskyndet) Gjæringsforløb hidrører derfra, at et mindre (eller større) Antal Gjærceller udfører Gjæringsarbejdet, eller om det hidrører derfra, at den enkelte Gjærcelle arbejder med mindre (eller større) Styrke. At disse Spørgsmaal ikke ere blevne stillede, hidrører vel tildels derfra, at man ikke altid skarpt nok har skjelnet imellem Gjærcellernes Formeringsevne og deres Fermentevne (i Forbindelse med deres Stofskifte). De nyere Undersøgelser have vist, at Gjærcellernes Formeringsevne og deres Fermentevne ikke paa samme Maade ere afhængige af de ydre Livsbetingelser, og at den ene af disse Evner meget vel kan ytre sig uden den anden. Disse Overvejelser lede ogsaa ind paa det fundamentale Spørgsmaal om Gjærformeringen, der maa løses, førend man med Held kan tage fat paa en Mængde andre Spørgsmaal vedrørende Gjæringen. — Ved Undersøgelser over Gjærcellens Formering kan vist nok ogsaa opnaas Resultater, der have Betydning for den almindelige Fysiologi, da vore Kundskaber om de Faktorer, der have Indflydelse paa Cellernes Formering, overhovedet ere yderst tarvelige. — At disse Undersøgelser ville strække sig over et langt Tidsrum, er en Selvfølge; hvad jeg giver i det følgende, er derfor kun en Begyndelse.

1. Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering.

I Litteraturen findes kun meget tarvelige Oplysninger om Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, hvilket vil fremgaa af de følgende litterære Angivelser.

Hos Rees[1]) (1870) findes en summarisk Angivelse om Vegetationen hos Saccharomyces cerevisiæ, idet han siger: »Seine mittlere Vegetationstemperatur liegt zwischen + 8° und + 35° C; unter dem Gefrierpunkt, oft schon zwischen 0° und + 3° C, stellt er seine Vegetation ein oder reducirt sie auf ein Minimum.« Men hvorledes Rees er kommen til disse Angivelser, om ved egne eller ved andres Undersøgelser, og hvorledes disse have været anstillede, derom siges Intet. Følgelig kan man heller ikke lægge synderlig Vægt paa hans Angivelser, tilmed da Udtrykket »Vegetation« er aldeles ubestemt, og det er derfor forklarligt, at Mayer i sin Lehrbuch der Gährungschemie 1874 aldeles ikke anfører dem.

Hvad Mayer[2]) (1874) siger om dette Spørgsmaal er følgende: »Die günstigsten Vegetationstemperaturen, d. h. also auch Ver-

[1]) Rees: Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. 1870. p. 5.
[2]) Mayer: Lehrbuch d. Gährungschemie. 1874. p. 113.

gährungstemperaturen, sind natürlich noch mehr abhängig von der Art oder Unterart, um deren Kultur es sich handelt. Doch mag das Optimum im Allgemeinen, wie für viele andere vegetative Processe, um 25° C. oder gegen 30° C. liegen. Eine langsame Gährung und Hefevegetation erscheint noch bei sehr niedrigen Temperaturen möglich, und ich habe selbst noch Gährung in einen Raume, der sich dauernd unter 0° befand, wahrgenommen. Wahrscheinlich gilt dies indessen nur für die Unterhefevarietät, deren Optimum auch erheblich niedriger als das der Oberhefe zu liegen scheint. Ganz exakte Zahlen stehen uns für diese Behauptungen in den seltensten Fällen zur Verfügung, und so begnügen wir uns zweckmässig mit diesen lückenhaften Mittheilungen.» Som man ser, har Mayer lige saa lidt som Rees virkelige Undersøgelser at holde sig til. Naar han lægger Optimum hen til »um 25° C. oder gegen 30°«, saa er det ikke, fordi han har Iagttagelser herom, men kun fordi Optimum for mange andre vegetative Processer ligger ved denne Temperatur. En enkelt Iagttagelse findes dog i det anførte Stykke hos Mayer; han har nemlig selv iagttaget Gjæring i et Rum, hvor Temperaturen stadig var under 0°. Men fra Gjæring tør man ikke slutte til Gjærformering, og om denne har Mayer ingen Iagttgelse gjort.

Schützenberger[1]) (1876) anfører følgende om det foreliggende Spørgsmaal: »Sodann fragt es sich, bei welcher Temperatur die Alkoholgährung, also auch das Leben der Hefe, mit grösster Energie sich äussert. Am günstigsten scheint die Temperatur zwischen 25° und 30° zu wirken, wobei aber auch noch einigermaassen die Beschaffenheit des Mediums sowohl wie die des Ferments in Betrachtung kommen. Selbst in der Nähe des Nulpunktes hört die Alkoholbildung durch Hefe noch nicht vollständig auf.« Hvorledes Schützenberger er kommet til disse Angivelser, ser man ikke. Han anfører Dumas som Hjemmelsmand for det Afsnit af Bogen, der handler om fysiske og kemiske Agentiers Indflydelse paa Alkoholgjæringen, og hvoraf det citerede Stykke danner Begyndelsen. I det citerede Arbejde af Dumas (Ann. de chimie et de phys. 5 Ser. Tome 3. 1874) findes nu ganske vist alt, hvad Schützenberger anfører om Elektricitetens, Lysets og kemiske Agentiers Virkning paa Gjæringen, men der findes ikke et Ord om det, hvormed Afsnittet begynder, nemlig om Temperaturen. Hos Dumas findes altsaa ingen Iagttagelser til Støtte for Schützenbergers Angivelser. Da Optimum for Gjæring, »og altsaa ogsaa for Gjærcellens Liv«, er angivet som

[1]) Schützenberger: Die Gährungserscheinungen 1876 p. 144.

hos Mayer, nemlig til 25°—30°, turde det vel ikke være helt usandsynligt, at Schützenbergers Angivelse egentlig stammer fra Mayer, der jo dog, som vi have set, og som han jo da ogsaa selv tilstaar, ingen Iagttagelser havde at støtte sig til. I ethvert Tilfælde har Schützenberger ingen Undersøgelser om Varmens Virkning paa Gjærcellens Formering.

Virkelige Undersøgelser om det foreliggende Spørgsmaal ere altsaa vist nok aldrig anstillede.

Egne Undersøgelser.

1. Undersøgelsesmethode.

A. Bestemmelse af Gjærmængden.

Ved det her foreliggende Spørgsmaal gjælder det om at bestemme Gjærmængden paa forskjellige Tidspunkter af Gjæringsforløbet. Denne Bestemmelse kan tænkes udført paa forskjellig Maade.

a. Vejningsmethoden.

Jeg havde først tænkt paa at anvende Vejning til denne Bestemmelse, men har ved nøjere Overlæg opgivet Vejningsmethoden som ubrugelig til denne Undersøgelse. Ved Forsøg, jeg har foretaget over Luftningens Indflydelse paa Gjæringen, og ved hvilke Gjærbestemmelserne bleve udførte ved Vejningsmethoden (se S. 72), har jeg, ligesom andre, erkjendt de store Vanskeligheder og Mangler ved denne Methode, der i sin Tid bragte Pasteur til at antage, at Gjærmængden voxer under Gjæringen, medens den bragte Liebig til at antage, at den ikke voxer under samme. Jeg skal her fremhæve et Par af Vejningsmethodens Mangler. For at faa Gjæren fjærnet fra den gjærende Vædske, maa man anvende Filtrering. Men denne er vanskelig og langvarig, selv om den udføres ved Sugning, og navnlig er den vanskelig i Gjæringens Begyndelse, hvilket for den foreliggende Undersøgelse netop er særlig uheldigt, da man, for at kunne bestemme Gjærdannelsens Hastighed, maa afbryde Gjæringen paa et tidligt Stadium. Den langsomme Filtrering, ved hvilken der f. Ex. godt kan medgaa en halv Snes Timer til Filtrering af 1 Liter, medfører den Ulempe, at Gjærcellerne kunne vedblive at formere sig, medens Filtrationen foregaar, saa at den Gjærmængde, man faar paa Filtret, ikke er den, der havde dannet sig indtil det Tidspunkt, da man afbrød Forsøget, og altsaa heller ikke den, man ønskede at bestemme. Denne Fejl

kan dog formindskes meget betydeligt, naar man lader Filtrationen foregaa i et Isskab ved tilstrækkelig lav Temperatur. — En anden Fejl ved Vejningsmethoden bestaar deri, at man ikke finder Vægten af selve Gjærcellernes Masse. Hvis der i den gjærende Vædske findes andre uopløste Bestanddele end Gjærceller, saa kunne disse blive tilbage paa Filtret sammen med Gjærcellerne. Men selv om dette ikke er Tilfældet, faar man dog ikke Vægten af Gjærcellerne alene; thi en Del af Vædsken bliver hængende paa og imellem Gjærcellerne og i Filtret. Vilde man forsøge paa at fjærne denne Fejl ved Udvaskning med destilleret Vand, saa vilde man derved indføre en ny Fejl, idet man ved Udvaskningen vilde opløse og fjærne en Del af Gjærcellernes opløselige Bestanddele.

Men selv om man vilde se bort fra Fejlene ved Vejningsmethoden, kan den dog alligevel ikke anvendes ved videnskabelige Undersøgelser over Gjærcellernes Formering; thi ved disse Undersøgelser kommer det jo alene an paa Gjærcellernes Antal. Nu er Gjærens Vægt ikke blot afhængig af Antallet af Gjærceller, men ogsaa af den enkelte Gjærcelles Vægt. En større Gjærvægt kan følgelig lige saa godt være et Udtryk for de enkelte Gjærcellers Vægtforøgelse som for Gjærcellernes Formering. Kun hvis Gjærcellens Vægt var den samme under forskjellige Forhold og altsaa kunde betragtes som en konstant Størrelse, turde man betragte Gjærvægten som et Udtryk for Gjærcellernes Antal; men denne Forudsætning er man aldeles ikke berettiget til at gjøre.

b. Iagttagelse af en enkelt Gjærcelle.

Naar man overvejer, hvilke Methoder man muligen kunde anvende til Bestemmelse af Gjærcellernes Formering, kommer man naturligvis strax til at tænke paa den Methode, der i den nyere Tid især har været anvendt til Løsning af en Mængde mykologiske Spørgsmaal, nemlig Iagttagelse af en enkelt Celle. Til Løsning af det Spørgsmaal, hvor stor en Gjærmængde der danner sig under hele Forløbet af en Gjæring, kan denne Methode dog ikke anvendes. Derimod lader den sig ganske vist anvende ved Spørgsmaalet om Gjærcellernes Formeringshastighed. Ved de foreløbige Forsøg, jeg har anstillet med denne Methode, dels ved Hjælp af Geislerske Kamre, dels ved Hjælp af Ranvierske Kamre, dels ved simpelt hen uden om Næringsvædsken at danne en Ring af Olje paa et Objektglas og derpaa anbringe et Dækglas, har det vist sig, at Gjærcellerne have en meget stor individuel Forskjellighed med Hensyn til den Tid, der behøves til Dannelsen af en ny Generation, saaledes at man, for at faa sande Middeltal, maa iagttage særdeles mange Celler, hver for sig, og

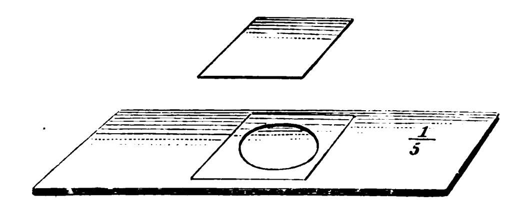
derved bliver Methoden meget besværlig og mindre heldig. Men til Afgjørelse af, om der under visse givne Forhold overhovedet finder Gjærcelleformering Sted eller ikke, vil denne Methode være fortrinlig.

c. Tællingsmethoden.

Da jeg talte med Hr. Prof. Panum om Vanskelighederne og Manglerne ved de her omtalte Methoder, henledte han min Opmærksomhed paa den i Dyrefysiologien anvendte, af Malassez angivne og af Hayem modificerede Methode til Tælling af Blodlegemerne i et bestemt Rumfang Blod, og han udtalte den Formodning, at denne Methode vist nok vilde være ligesaa anvendelig til Tælling af Gjærceller som til Tælling af Blodlegemer. Professor Panum overlod mig med den Forekommenhed, han altid viser mod yngre Videnskabsmænd, det Hayem-Nachetske Hæmatimeter tilligemed Beskrivelsen heraf. Ved de Forsøg, jeg anstillede hermed, viste det sig, at Methoden var særdeles god, og det er den, jeg har anvendt ved mine Undersøgelser. Jeg skal nu give en Beskrivelse af Tællingsmethoden, saaledes som jeg har uddannet og tillempet den til Brug ved Gjærundersøgelser.

Methoden gaar ud paa at tælle det Antal Gjærceller, der findes i et vist Rumfang af en Vædske, naar Gjærcellerne ere jævnt fordelte i den.

Apparatet, man anvender, bestaar i et Objektglas (*a*), hvortil er fastklæbet et Dækglas (*b*) af $^1/_5$ mm Tykkelse. Af Dækglasset



er et cirkelformigt Stykke skaaret ud. Derved faar man altsaa et lille kredsformigt Rum af $^1/_5$ mm. Højde. I dette Rum anbringes en Draabe af den Vædske, man vil undersøge, og et plant slebet, tykt Dækglas lægges over, hvorved man faar et Vædskelag, hvis Højde er $^1/_5$ mm.. Dette Vædskelag bliver ved Projektionen af et i Mikroskopets Okular indlagt Mikrometer[1]), der er inddelt i lige store kva-

---

[1]) Saadanne Netmikrometre og Objektglas med Kammer af $^1/_{10}$ mm. eller $^1/_5$ mm. Dybde findes anførte i Zeiss's Priskurant fra 1877 under Nr. 45 og 46.

dratiske Felter, afdelt i smaa Prismer, hvis Højde er $^1/_5$ mm., og hvis Grundflade er Projektionen af et af Mikrometrets Kvadrater. Et saadant Vædskeprisme vil jeg i det følgende kalde en Rumfangsenhed, og det er det gjennemsnitlige Antal Gjærceller, der findes i et saadant, det kommer an paa at bestemme. Naar Gjærcellerne have en større Vægtfylde end den Vædske, hvori de findes — og dette vil sædvanlig være Tilfældet —, saa ville de efter nogle Minuters Forløb have sænket sig ned paa Objektglasset, og det Antal Gjærceller, der da ses i ethvert af Synsfeltets Kvadrater, er det Antal Gjærceller, der fandtes i den til dette Kvadrat svarende Rumfangsenhed. Naar man ved alle Undersøgelser bruger den samme Rumfangsenhed, saa er dennes absolute Størrelse ganske ligegyldig. Jeg har bestandig arbejdet med Hartnacks Objektiv VII, Okular III og med Tubus indskudt; Rumfangsenheden var da $\frac{1}{2000}$ Kub. Millimeter.

Fremgangsmaaden ved Gjærtællingen er da denne: Den Vædske, hvis Celleantal man vil undersøge, (eller en Prøve deraf) rystes meget stærkt for at tilvejebringe en jævn Fordeling af Gjærcellerne i Vædsken. Ved Hjælp af et Haarrør anbringes en Draabe paa Objektglasset; denne Draabe maa ikke være saa stor, at den fylder Objektglassets omtalte Fordybning eller Rum, hverken før eller efter at Dækglasset er lagt paa. Efterat Præparatet har ligget i Ro et Par Minuter paa Mikroskopets Objektbord, for at Gjærcellernes Sænkning kan foregaa, skrider man til Tælling af det Antal Celler, der findes i hvert af Synsfeltets Kvadrater. Før Tællingen begynder, drejer man Okularet saaledes, at Linierne i Synsfeltet kun gaa i Retningen Nord-Syd og Øst-Vest (disse Udtryk brugte saaledes, som de almindelig bruges, naar Talen er om Landkort eller om at bestemme Beliggenheden af Objekter i Mikroskopets Synsfelt). Man finder nu altid en Del Celler, der ikke ligge i Synsfeltets Kvadrater, men paa de Kvadraterne begrænsende Linier, saa at de lige saa godt kunne regnes til det ene som til det andet af to Nabokvadrater. Naar man i saadanne Tilfælde er konsekvent, kan det jo være ligegyldigt, hvilke Regler man følger. Jeg regner altid en Celle, der ligger paa en nordligsydlig Linie, til det vestlige Kvadrat, og en Celle paa en østligvestlig Linie til det sydlige Kvadrat. — Hvis Antallet af Celler i hvert Kvadrat er saa stort, at Tællingen ikke godt kan udføres med Nøjagtighed, maa man anvende Fortynding af Vædsken. Men man bør dog ikke fortynde mere end nødvendigt. Fortyndingens Grad maa selvfølgelig nøje bestemmes og tages med i Beregning,

naar man af det fundne Antal Celler i Rumfangsenheden af den fortyndede Vædske udregner Celleantallet i Rumfangsenheden af den ufortyndede Vædske. Da man ved denne Regning maa multiplicere det fundne Tal med Fortyndingstallet, hvorved en eventuel Fejl i det fundne Tal altsaa ogsaa bliver multipliceret, er det indlysende, at man ikke bør fortynde mere end nødvendigt. Hvis man har til sin Raadighed et lavere Objektglas med et kredsformigt Rum, saaledes at man faar en lavere Vædskesøjle f. Ex. paa $^{1}/_{10}$ mm., saa er maaske Fortyndingen overflødig. Fortyndingen udføres paa den Maade, at man efter stærk Rystning tager ved Hjælp af en Pipette en Kubikcentimeter af den Vædske, man vil undersøge, og kommer den i en lille Flaske. Til denne Kubikctm. Vædske sættes ved Hjælp af en Pipette et bekjendt Antal Kubikcentimetre af den Vædske, man anvender til Fortynding. Hertil kan anvendes Vand eller Urt. — Undertiden danne Gjærcellerne Klumper, som man ikke kan faa sprængte ved Rystning. Man maa da anvende Fortynding enten med Vand eller, hvad der i dette Tilfælde er bedre, med fortyndet Natronlud.

Tællingsmethodens Fejlgrænser. I hvor mange Felter man maa tælle Cellerne for at faa et sandt Middeltal, maa afgjøres efter de samme Regler, som anvendes ved andre statistiske Methoder, hvor man af en Række iagttagne Tal skal finde et sandt Middeltal. De Tal, hvoraf Middeltallene ere beregnede ved mine Undersøgelser, hidrøre altid fra flere Præparater og fra forskjellige Steder henimod Midten af samme Præparat. Tællingen er fortsat saa længe, indtil det viste sig, at endnu flere Tal vare uden væsentlig Indflydelse paa Middeltallet. Naar det successiv beregnede Middeltal stemmer overens i de hele Tal, er der ved disse Undersøgelser ingen Grund til at tage endnu flere Tal med. En saadan Overensstemmelse i de successsive Middeltal faar man allerede af færre end 50 Tal. Ved mine Forsøg ere Middeltallene udregnede af 50 eller af 100 Tal. For at vise, hvor nøjagtig Methoden er, skal jeg her exempelvis fra et af Forsøgene anføre Rækken af successive Middeltal, beregnet af 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 og 100 Tal, samt de successive Middeltals Afvigelser fra Hoved-Middeltallet.

De successive Middeltal:	Afvigelser fra Hoved-Middeltallet:
66 : 10 = 6,6.	0,18.
140 : 20 = 7,0.	0,58.
190 : 30 = 6,33.	0,09.
270 : 40 = 6,75.	0,33.

De successive Middeltal:	Afvigelser fra Hoved-Middeltallet.
329 : 50 = 6,58.	0,16.
392 : 60 = 6,53.	0,11.
435 : 70 = 6,21.	0,21.
513 : 80 = 6,41.	0,01.
583 : 90 = 6,47.	0,05.
642 : 100 = 6,42.	0,00.

B. Tilvejebringelse af konstante Varmegrader.

For at kunne undersøge Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, maa man have Rum med forskjellige, konstante Varmegrader til sin Raadighed. For at tilvejebringe disse ere thermostatiske Apparater nødvendige. Af de mig bekjendte Apparater for konstante Varmegraders Tilvejebringelse er det af Panum konstruerede thermostatiske Apparat det bedste. Dette har været benyttet ved disse Undersøgelser. Man har i det en Række af lukkede Rum, hvert med sin konstante Temperatur. Apparatet er opstillet i et Værelse, hvor Sollyset kan holdes ude ved Hjælp af forskydelige Træskodder for Vinduerne, der vende mod Nord og Øst. Den gjærende Vædske stilles ind i de Rum, hvori de ønskede Varmegrader haves.

Prof. Panum har velvilligst overladt mig følgende Afbildning og Beskrivelse af hans i et endnu ikke udkommet Hefte af Nordisk medic. Arkiv (Bd. 10, Nr. 4) omtalte thermostatiske Apparat. Han siger:

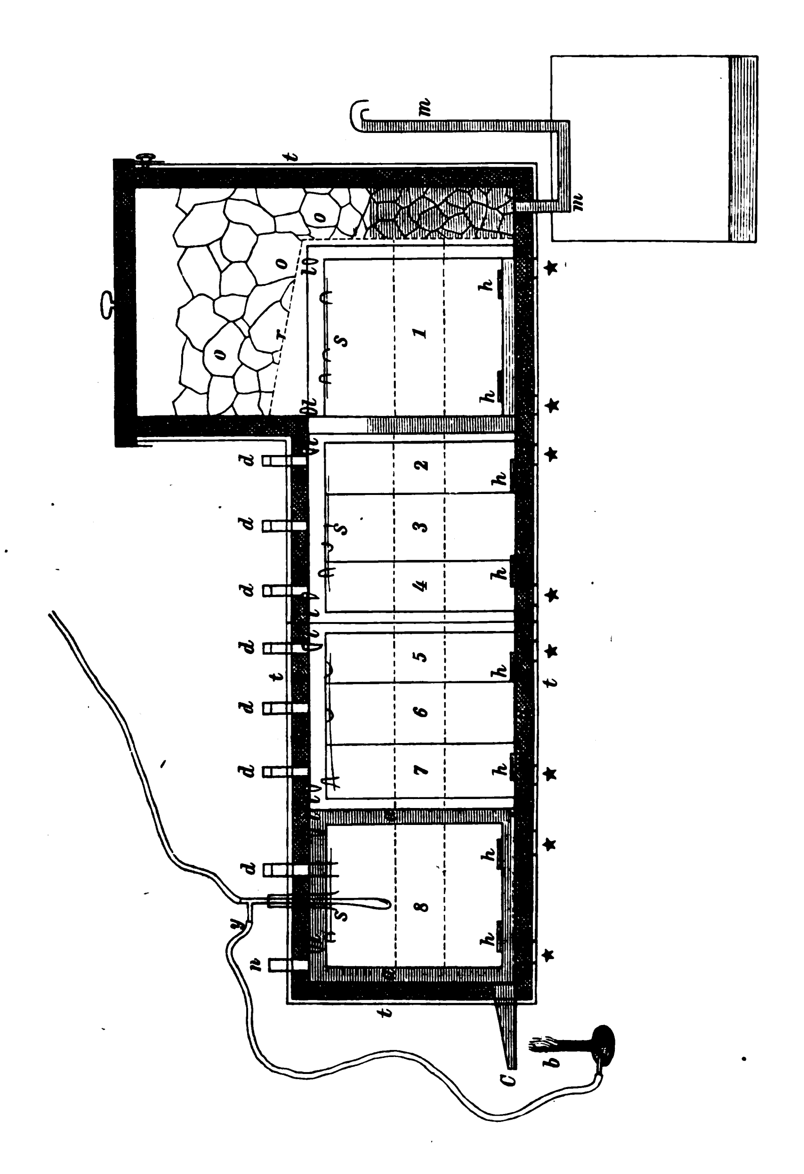
»For at kunne vedligeholde en bestemt Temperatur under Opbevaringen af Substanser, som kunne gaa i Gjæring, og under Udviklingen af mikroskopiske Organismer, har jeg indrettet et Slags Thermostat, ved Hjælp af hvilken jeg stadig kan raade over flere konstante Temperaturgrader, lige fra nogle og fyrretyve Grader Celsius indtil en Temperatur, som kun ligger lidt over Frysepunktet, hvorved man saa at sige raader over et tropisk Klima, et Polarklima og flere forskjellige tempererede Klimater.

Det første, mindre og ufuldkomnere Apparat af denne Art har jeg indrettet i Universitetets fysiologiske Laboratorium. Et større og i flere Henseender forbedret, men langt kostbarere, Apparat findes nu i Carlsberg Laboratoriet.

Sammes Indretning anskueliggjøres ved Afbildningen.

Rummet 8 er en dobbelt Kasse af Kobber, som i Carlsberg Laboratoriet har en Højde, Bredde og Dybde af en Alen. Rummet *aa* imellem den udvendige og den indvendige Kobberkasse er fyldt med

Vand, hvis Temperatur ved Hjælp af en Gasflamme (*b*), der reguleres efter det af Bunsen angivne Princip (*y.s*), holdes konstant paa c. 40° C. Den selv regulerende Gaslampe er anbragt under en vingeformig



Forlængelse (*c*) af den Vandbeholder (*aa*), som dannes af Mellemrummet imellem den indvendige og udvendige Kobberkasse. Beholderens Fyldning med Vand sker igjennem et foroven anbragt

Rør (*n*), og det kan aftappes ved Hjælp af en paa den vingeformige Udvidelse anbragt, men i Tegningen ikke angivet Hane. For at den vingeformige Udvidelse skal kunne repareres og renses for Kjedelsten, er den foroven lukket ved en paaloddet Plade, som kan aftages ved Hjælp af en Loddebolt, naturligvis efter at Vandet er aftappet. Til Forfærdigelsen af denne dobbelte Kasse er det bedst at tage Kobber, og det er paa Grund af det betydelige Vandtryk paa de store Vægge nødvendigt, at de to Kassers Vægge afstives ved Hjælp af korsformige, paa Højkant stillede Metalplader, som forbinde dem indbyrdes og forhindre den Udvidelse af Rummet imellem Kasserne, som ellers vilde bevirkes ved Vandtrykket, hvorved den inderste Kasse vilde bugtes indadtil, medens den yderste bugter sig udad. Det er hensigtsmæssigt, at man, efter at den tilsigtede Varmegrad omtrent er naaet, hælder Olie i det Rør, hvorigjennem Vandet er fyldt paa, for at forhindre Vandets Fordampning. Paa den modsatte Ende af Thermostaten er anbragt en Iskasse (1) af lignende Dimension som Varmerummet (8). Denne Iskasse kan være forfærdiget af fortinnet stærkt Jernblik. Den bestaar af en indvendig Kasse, som med sin Bagvæg er forbundet med den ydre Kasse, der tjener til at optage Isen (*oo*). Den indvendige Kasse er ved en Rist (*r*) af temmelig tykke Jernstænger beskyttet imod Beskadigelse ved Isens Paafyldning ovenfra. Isen bedækker den indre Kasse foroven helt, og det er hensigtsmæssigt ogsaa at lade den gaa ned imellem den indre og den ydre Kasses udvendige Sidevæg. Det af Isen smeltende Vand kan rinde ned over den indvendige Kasses Bagvæg og indvendige (d. e. til Rummet 2 stødende) Sidevæg, og det har Afløb ved hele Apparatets Udkant igjennem en Vandlaas (*mm*), hvis Afløb, saafremt Isen naaer ned til Bunden, hensigtsmæssigt kan anbringes saa højt, at den hele nederste Del af den indvendige Kasse er omgivet af iskoldt Vand. Saafremt Isen imidlertid kun foroven bedækker den indvendige Kasse, er det naturligvis ikke nyttigt, men tvertimod skadeligt, at anbringe Vandlaasens Afløb saa højt, at det smeltede Vands hurtige Afløb forhindres. Imellem disse to store Rum, paa den ene Side Varmerummet (8) og paa den anden Side Iskassen (1), er anbragt en af fortinnet Jernblik forfærdiget lang Kasse (2—7), som paa den ene Ende er skruet fast til Varmtvandsbeholderen og paa den anden Ende til Isbeholderen, og som ved Skillevægge af Metalblik er delt i saa mange Rum, som man ønsker at faa konstante Temperaturgrader, der danne en Skala imellem c. 40 og c. 2° C. Saavel alle disse Rum, som Varmtvandsbeholderens og Isbeholderens udvendige Kasser ere foroven, forneden, paa Bagsiden og ved begge Enderne omgivne

med en meget slet Varmeleder, nemlig med saakaldt Kradsuld (*uu*), og yderst med en tæt Trækasse (*tt*), saaledes at Kradsulden aldeles opfylder Rummet imellem hele den sammensatte Metalkasses Udside og Trækassens Indside, paa alle Sider undtagen fortil. Fortil lukkes Varmekassen med en, og Iskassen med en anden, tæt sluttende Blikdør, hvis Hængsler (*hh*) ere anbragte forneden, og som foroven kan lukkes med en Skodde (*s*). 2 eller 3 lignende Døre lukke for de mellemliggende Rum, saaledes at en fælles Dør lukker for flere (2—4) af disse Rum. Tilsvarende, meget tæt sluttende Døre ere ogsaa anbragte paa Trækassen (*tttt*), og Indsiden af disse Døre er beklædt med Uldtøj og stoppet med en Pude af Uld. Derhos gribe Trædørene med Lister over hinanden, saaledes, at Kassen fortil kan lukkes saa tæt som mulig. Trædørene have naturligvis ligesom Blikdørene Hængsler ($_{**}$) forneden og Laas og Lukke (*ll*) foroven, og Hængslerne ere anbragte saaledes, at de tillige med Blikdørene, naar de ere aabnede, danne et Slags Bord, hvorpaa man foreløbig kan stille de Apparater, som skulle stilles ind i eller tages ud af Rummene. Naar Dørene alle ere lukkede, saa maa den væsentlige Varmeudjævning imellem Varmekassen paa den ene og Iskassen paa den anden Side foregaa igjennem de af Metalblik dannede Skillevægge, og herved opnaas naturligvis en jævn og forskjellig graderet Temperatur i de forskjellige Rum, omtrent ens for Sommer og Vinter, Dag og Nat. Fluktuationerne overstige, naar man skjænker Regulationen den fornødne Opmærksomhed, næppe 1 eller højst et Par Grader. Temperaturen i de forskjellige Rum bestemmes lettest og bedst ved Hjælp af smaa Thermometre, som, et i hvert Rum, ere anbragte i med Olie fyldte Glas, for at man kan aflæse den Temperatur, som er tilstede i Rummet, naar Dørene holdes lukkede, uden at Observationen af denne Temperatur forstyrres derved, at Døren aabnes i nogen Tid, eftersom Olien er en meget slet Varmeleder. Denne Maade, at bestemme Temperaturen paa, er ikke blot bekvemmere, men ogsaa paalideligere end den Varmebestemmelse, som man kan foretage ved at anbringe et Thermometer i et forresten med en gjennemboret Prop lukket Rør (*d*), som er anbragt i Loftet af hvert enkelt Rum. Thi herved kan Temperaturen kun bestemmes paa et enkelt Sted i Varmekassen. Men der er altid nogen Forskjel i Temperaturen i den øverste og i den underste Del af hvert Rum, og denne Forskjel kan man let bestemme ved Hjælp af de smaa Thermometre, som, med Kuglen nedsænkede i Olie, ere anbragte i Rummene, og som tillige med de Substanser, der skulle observeres, kunne stilles paa en bestemt af de i alle Rummene anbragte løse Hylder. Hele Thermostaten er anbragt paa et Bord af passende Højde, og den

opstilles naturligvis med Bagsiden støttet til en Væg, fra hvilken den er skilt ved Trækassens Bagside.

Alle de Apparater og Substanser, som benyttes ved Undersøgelsen, kunne nu anbringes i denne Thermostat, saaledes at Varmegradens Indflydelse paa Gjærings- og Forraadnelsesprocessen saavel som paa de mikroskopiske Organismers Vegetation og Formering kan iagttages ved Hjælp af dette Apparat.

De i Tegningen angivne Rør (*ddd.*), der ere anbragte i Loftet af hvert af Thermostatens Rum, behøves, som sagt, ikke til Temperaturens Bestemmelse, men de kunne være nødvendige, naar man under Forsøget vil lede Luft igjennem en Substans, der stadig skal holdes ved en bestemt Temperatur.«

C. Rensning af Gjæren til Forsøgene.

Til Forsøgene er anvendt en saa vidt mulig ren Gjær, bestaaende af saa vidt mulig ens Gjærceller. Forsøgene ere udførte med Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ. Den fra Bryggeriet hentede Undergjær er ikke benyttet uden videre, men den er først bleven renset ved Hjælp af den af Brefeldt[1]) i videnskabelige Øjemed anbefalede og mangfoldige Aar forinden paa Bryggeriet Carlsberg praktisk med stort Held udførte Gjærslemning, som jeg har udført ved Hjælp af et lille Slemningsapparat, der er konstrueret efter den til Jordslemning brugelige Slemningscylinder, og simpelthen bestaar i en Glascylinder, der paa Siden er forsynet med Afløbsrør i forskjellig Højde[2]).

Efter at der ved gjentagne Slemninger var opnaaet en Gjær, som bestod af væsentlig lige store og lige tunge Celler, er denne Gjær yderligere bleven renset ved successive Kulturer, fore-

---

[1]) Brefeldt: Untersuchungen über Alkoholgährung. Landwirthsch. Jahrbücher III. p. 42—3.

[2]) Brefeldt (l. c. p. 43) siger: »Wenn das Wasser nicht nahezu 0° oder einige Grade über 0° hat, setzt sich die Hefe nicht ab und das Schlemmen ist unmöglich«. Ved de ikke faa Gjærslemningsforsøg, jeg efter Hr. Kaptajn Jacobsens Tilskyndelse har udført, har jeg dog ikke bemærket nogen Vanskelighed ved Slemningen, skjøndt den er bleven udført ved almindelig Stuetemperatur. Hvad Grunden kan være til, at jeg ikke har funden Brefeldts Angivelse bekræftet, skal ikke paa dette Sted nærmere undersøges. Maaske er den Carlsbergske Undergjær ved den i en lang Aarrække anvendte Slemning bleven lettere at slemme, idet der formedelst Avlsvalg har udviklet sig en Gjærform af en større Vægtfylde end ellers, saa at det Maal, som Brefeldt haabede, at man kunde opnaa ved Slemningen, nemlig at fremavle en tungere og større Gjærform, maaske allerede her er opnaaet.

tagne med smaa Gjærmængder til Udsæd, en Methode, der i de senere Aar almindelig anvendes ved Renkultur i Mykologien. Disse Kulturer ere blevne udførte i Isskabet ved c. 4° C. for at undgaa eventuelt, trods Slemningen, tilstedeværende Bakterier. Til Næringsvædske ved Renkulturen er benyttet klar, ikke humlet Urt.

Først den ved disse Manipulationer rensede Gjær, der ved den mikroskopiske Undersøgelse fandtes at se sund og ren ud, er benyttet til Forsøgene.

2. Forsøgenes Udførelse og Resultater.

Da det var af Vigtighed ved Forsøgene at benytte en Næringsvædske, hvori Gjærcellerne voxede godt, er der ogsaa hertil benyttet klar, ikke humlet Urt, der var filtreret gjennem Filtrerpapir. Til Urten blev ved Hjælp af en Glasstang sat lidt af den rensede Undergjær, der ved Omrøring og Rystning blev fordelt i Vædsken, som derpaa saa hurtig som muligt ved Hjælp af en Pipette blev bragt i lige store Flasker paa lidt over 100 Kubctm., saaledes at der kom 50 Kubctm. i hver Flaske. Flaskerne bleve henstillede i forskjellige Rum af det thermostatiske Apparat, saa længe Forsøget varede. Ved Tællingsmethoden bestemtes Gjennemsnitsantallet af Gjærceller i en Rumfangsenhed ved Forsøgets Begyndelse og til forskjellige Tidspunkter. Til denne Bestemmelse behøver Forsøget ikke at afbrydes; man behøver kun at udtage en Prøve, f. Ex. 1 Kubctm., efter forudgaaende stærk Rystning. Kan man ikke strax efter Prøvens Udtagelse komme til at udføre Tællingen, hvad f. Ex. er Tilfældet, hvis man har flere Tællinger at foretage, der egentlig skulde udføres samtidig, saa kunne Gjærcellerne i Prøven vedblive at formere sig i den Tid, der gaar hen, indtil Tællingen kan udføres. Denne Fejl undgaas, naar man tilintetgjør Gjærcellernes Formeringsevne fra det Øjeblik af, da Prøven udtages, hvilket sker, naar man til Prøven sætter saa meget og saa koncentreret Natronlud, at Cellerne trække sig sammen. Men man maa da, naar Tællingen skal udføres, fortynde med Vand, for at faa Cellerne til at sænke sig. Rumfangsforholdet mellem Vædsken med Gjærcellerne, Natronluden og Vandet maa naturligvis kjendes.

Første Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering i det første Døgn ved 4°, 13,5° og 23° C. (Forsøg 1—3.)

Denne Forsøgsrække gik ud paa at finde den Hurtighed, hvormed Gjærcellerne formere sig ved forskjellige, konstante Varmegrader. Da Næringsvædskens Sammensætning har Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, og da den forandrer sig under Gjærings-

forløbet derved, at visse Stoffer forbruges og andre Stoffer, Gjæringsprodukterne, der have en hæmmende Indflydelse paa Gjærcellernes Formering, komme til, saa tør Forsøg, der skulle oplyse noget om Temperaturens Indflydelse paa den Hurtighed, hvormed Gjærcellernes Formering foregaar, ikke vare altfor længe. Varer Forsøget længe, vil Forandringen i Næringsvædskens Sammensætning, især ved højere Temperatur, være saa stor, at man ikke ved, hvad der maa skrives paa Temperaturens og hvad paa den forandrede Næringsvædskes Regning. Jo kortere Forsøget varer, desto mindre ere Forandringerne i Næringsvædsken, og desto renere træder Varmens Virkning frem; men desto mindre fremtrædende er da ogsaa Forskjellen i Gjærcellernes Formering. Jeg har fundet, at et Døgn er en ret passende Forsøgstid. Forandringerne i Næringsvædsken ere i den Tid næppe saa store, at der er Grund til at antage, at en væsentlig Indvirkning paa Gjærcellernes Formeringsevne finder Sted, og Forandringerne i Gjærcellernes Formering træde tydeligt nok frem, selv ved lavere Temperatur. Ved de højere Varmegrader, ved hvilke Forandringen i Næringsvædsken foregaar hurtig, vilde maaske en endnu kortere Tid end 1 Døgn have været at foretrække; men det har sine Vanskeligheder at sammenligne de forskjellige Forsøg, naar de ikke have varet lige længe.

Resultatet af Forsøgene var følgende:

Gjennemsnits-Antallet (n') af Gjærceller i en Rumfangsenhed var efter 1 Døgns Forløb:

14,4 Celler ved 4° C. (Forsøg 1)
30,5 — - 13,5° C. (Forsøg 2)
og 77,2 — - 23° C. (Forsøg 3),

naar der i Gjennemsnit var udsaaet 6,4 Celler (n^0) i hver Rumfangsenhed ved Forsøgets Begyndelse.

Altsaa var Gjærcellernes Formering ($n' - n^0$) eller Tilvæxten af Antallet af Gjærceller i en Rumfangsenhed:

8 Celler ved 4°
24,1 — - 13,5°
og 70,8 — - 23°,

naar der i Gjennemsnit var udsaaet 6,4 Celler i hver Rumfangsenhed fra Begyndelsen af. Og Gjærcellernes Forfoldigelse $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ i det 1ste Døgn, eller Forholdet mellem Celleantallet efter 1 Døgns Forløb og det oprindelig udsaaede Antal var:

2,3 ved 4°
5,0 - 13,5°
12,8 - 23°.

Af de ved Forsøgene fundne Tal kan man beregne det Antal Cellegenerationer, der har dannet sig i det første Døgn[1]).

Det Antal Cellegenerationer, der har dannet sig i det første Døgn, var:

1,2	ved	4° C.
2,3	-	13,5° -
3,7	-	23° -

Heraf kan man finde den Tid, der er brugt til Dannelsen af en ny Cellegeneration.

Den Tid, der i første Døgn forløber fra en Gjærcelles Oprindelse indtil den selv frembringer en ny Celle, var:

20	Timer	ved	4°
10,5	—	-	13,5°
6,5	—	-	23°.

Anden Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering i første Døgn ved 23°, 28°, 34°, og 38° C. (Forsøg 4—6).

Ved denne Forsøgsrække skulde der undersøges, om Hurtigheden af Gjærcellernes Formering vedbliver at stige med Temperaturen, eller om der gives et Temperatur-Optimum, ved hvilket

---

[1]) Gaar man ud fra en enkelt Celle og forudsætter, at alle Celler ere lige formeringsdygtige, til hvilken Generation de end høre, saa vil Antallet af Celler efter første Deling være:

$$2 = 2^1$$

efter anden Deling $4 = 2^2$

efter tredie Deling $8 = 2^3$

og i Almindelighed efter g Delinger 2^g.

Men hvis der nu oprindelig er n^0 Celler, vil der ved hver Deling være n^0 Gange saamange, som hvis der oprindelig kun var 1 Celle, og efter g Delinger vil der altsaa være et Celleantal, der er lig $n^0 \times 2^g$.

Hvis der oprindelig findes n^0 Celler i en Rumfangsenhed og efter 1 Døgns Forløb n' Celler i Rumfangsenheden, kan Antallet g af Cellegenerationer, der har dannet sig i denne Tid, altsaa findes af Ligningen

$$n^0 \times 2^g = n'$$

Heraf findes $$g = \frac{\log. \left(\frac{n'}{n^0}\right)}{\log. 2.}.$$

Antallet af Cellegenerationer, der har dannet sig i første Døgn, er lig Logarithmen af det Tal, der udtrykker Gjærcellernes Forfoldigelse, divideret med Logarithmen til 2.

Formeringen foregaar hurtigst, og et Temperatur-Maximum, ved hvilket den hører op. Forsøgene bleve udførte som i den første Forsøgsrække; men den udsaaede Gjærmængde var saa lille, at der i Gjennemsnit ikke fandtes 1 Celle i hver Rumfangsenhed, hvorfor Gjærcelleantallet efter et Døgns Forløb maatte blive absolut mindre end i første Række.

Resultatet var følgende:

Gjennemsnits-Antallet af Gjærceller i en Rumfangsenhed var efter 1 Døgns Forløb:

8 (nøjagtig 7,96) Celler ved 23° (Forsøg 4)
11 (nøjagtig 11,07) — - 28° (Forsøg 5)
4 (nøjagtig 3,95) — - 34° (Forsøg 6)
og ingen Celleformering ved 38° (Forsøg 7).

Denne Forsøgsrække kan ikke uden videre sammenlignes med den første Forsøgsrække. Førend en Sammenligning kan finde Sted, maa man udregne, hvilke Tal man vilde have faaet, hvis Antallet af udsaaede Gjærceller havde været det samme i begge Rækker. Da man ikke kjender Antallet af de i en Rumfangsenhed udsaaede Celler i den anden Forsøgsrække, maa dette Antal først udregnes, hvilket kan ske, da vi i begge Rækker have et Forsøg ved den samme Temperatur, nemlig Forsøgene ved 23°. Vi finde da, at der i Gjennemsnit har været udsaaet $^5/_8$ Celle i hver Rumfangsenhed; det vil sige: der har været 5 Celler i 8 Rumfangsenheder. Man kan nu ogsaa udregne, hvor stort Celleantallet vilde være blevet, hvis der var blevet udsaaet 6,4 Celler i hver Rumfangsenhed i den anden Forsøgsrække ligesom i den første.

Man kommer herved til følgende Resultat:

Naar der i en Rumfangsenhed udsaas 6,4 Gjærceller, saa vil Gjennemsnits-Antallet af Gjærceller, der findes i en Rumfangsenhed efter det første Døgns Forløb, være:

112,6 Celler ved 28°
og 40,9 — - 34°.

Altsaa er Gjærcellernes Formering ($n' - n^0$) i en Rumfangsenhed efter det første Døgns Forløb:

106,2 Celler ved 28°
34,5 — - 34°,

naar der fra Begyndelsen af udsaas 6,4 Celler i Rumfangsenheden.

Og Gjærcellernes Forfoldigelse $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ i det første Døgn vil være:

17,6 ved 28°
6,4 - 34°

Det Antal Cellegenerationer, der danner sig i det første Døgn, vil være:

4,1 ved 28°
2,6 - 34°

Følgelig vil Generationstiden eller Tiden til en Cellegenerations Dannelse i det første Døgn være:

5,8 Timer ved 28°
9,0 — - 34°.

Sammenfatning af begge Forsøgsrækker.

For bedre Oversigts Skyld ville vi sammenstille Resultatet af begge Forsøgsrækker, idet vi angive Forholdstallene af det hele Antal Gjærceller efter første Døgns Forløb ved de forskjellige Temperaturer, naar det oprindelig udsaaede Antal Gjærceller sættes lig 100.

Naar det ved hvert Forsøg udsaaede Antal Gjærceller sættes lig 100, saa vil det hele Antal Gjærceller ved Slutningen af det første Døgn være:

225	ved	4°
476	-	13,5°
1206	-	23°
1759	-	28°
639	-	34°
100	-	38°

Af disse Forholdstal for det hele Antal Gjærceller faas Forholdstallene for Gjærcellernes Formering ved Subtraktion af 100, og Forholdstallene for Gjærcellernes Forfoldigelse faas ved Division med 100.

Et samlet Overblik over den Tid, som behøves til Dannelsen af en Generation, faar man af følgende Tabel:

Generationstiden var

20	Timer	ved	4°
10,5	—	-	13,5°
6,5	—	-	23°
5,8	—	-	28°
9,0	—	-	34°

En mere anskuelig Forestilling om Gjærcelleformeringens Afhængighed af Temperaturen, end man faar ved den blotte Betragtning af Tallene, giver den grafiske Fremstilling ved Hjælp af Kurver, hvor Varmegraden afsættes som Abscisser, og det til den paagjæl-

dende Temperatur svarende Gjærcelle-Antal, eller den tilsvarende Gjærcelleformering eller Gjærcelleforfoldigelsen eller Gjærcellernes Generationstid som Ordinater. Ved Hjælp af disse Kurver kan man ogsaa kontrollere de fundne Tals Nøjagtighed. — Paa den medfølgende Tavle I. fremstiller Kurven Nr. 1 Gjærcellernes Antalskurve. Gjærcellernes Formeringskurve er ikke konstrueret, da den jo vil være parallel med Antalskurven og altsaa have samme Form som denne. Kurven Nr. 2 er Gjærcellernes Forfoldigelseskurve, og Nr. 3 er Kurven for Gjærcellernes Generationstid.

Af Iagttagelserne kunne følgende Sætninger udledes:

Den Hastighed, hvormed Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ formerer sig i den af mig anvendte ikke humlede Urt, er voxende med Temperaturen, dog ikke i et proportionalt Forhold, indtil et Temperatur-Optimum, der ligger mellem 28° og 34° C., men sandsynligvis nærmest ved 28°. Overskrides Temperaturens Optimum, saa aftager Formeringens Hastighed stærkt indtil et Temperatur-Maximum, der ikke ligger over 38°, og ved hvilket Gjærcellernes Formering ophører.

Hvad angaar Formerne af Gjærcellernes Formeringskurver, da kan jeg af de foreliggende Iagttagelser kun bestemme definitivt det Stykke af Kurverne, der ligger mellem 4° og 28°, eller Kurvernes første Gren. Herom gjælde følgende Sætninger:

Mellem 4° og 28° ere Kurverne for Gjærcellernes **Antal** saavel som for deres **Formering** og for deres **Forfoldigelse**, betragtede som Funktioner af Temperaturen, krumme Linier, der ere opad stigende og vende deres konvexe Side mod Abscisseaxen.

Mellem 4° og 28° er Kurven for Gjærcellernes **Generationstid**, betragtet som Funktion af Temperaturen, en krum Linie, der er nedad stigende og vender den konvexe Side mod Abscisseaxen.

Hvad Kurvernes anden Gren angaar, da kan jeg foreløbig kun sige, at den har sikkert en anden Form end den første Gren; men nærmere Undersøgelse heraf og af Maaden, hvorpaa Kurvernes to Grene forbindes, og overhovedet nærmere Undersøgelse af Gjærcellernes Formering ved Varmegrader over 28° C. maa jeg forbeholde en nærmere Undersøgelse.

Tredje Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering i det andet Døgn ved 4°, 13,5° og 23° C. (Forsøg 8—10.)

Forsøgene i denne Række ere Fortsættelser af Forsøgene 1—3 i den første Række, efter at de til Tællingen nødvendige Prøver af 1 Kubctm. vare udtagne.

Gjennemsnits-Antallet (n″) af Gjærceller i en Rumfangsenhed, hvori der var udsaaet 6,4 Celler, var efter 2 Døgns Forløb:

33,4	Celler	ved	4^0	(Forsøg 8)
82,6	—	-	$13{,}5^0$	(Forsøg 9)
97,2	—	-	23^0	(Forsøg 10).

Altsaa var Gjærcellernes Formering (n″—n′) i en Rumfangsenhed, der oprindelig indeholdt 6,4 Celler, i det andet Døgn:

19	Celler	ved	4^0
52,1	—	-	$13{,}5^0$
20	—	-	23^0.

I andet Døgn var følgelig Gjærcellernes Formering størst ved $13{,}5^0$ og omtrent lige stor ved 4^0 og 23^0.

Gjærcellernes Forfoldigelse $\left(\frac{n''}{n'}\right)$ i det andet Døgn var:

2,3	ved	4^0
2,7	-	$13{,}5^0$
1,3	-	23^0.

Forfoldigelsen var altsaa i det andet Døgn størst ved $13{,}5^0$, lidt mindre ved 4^0 og mindst ved 23^0.

Det Antal Cellegenerationer (g″), der dannede sig i det andet Døgn, var:

1,2	ved	4^0
1,4	-	$13{,}5^0$
0,36	-	23^0.

Generationstiden (t″) var i det andet Døgn:

20	Timer	ved	4^0
16,7	—	-	$13{,}5^0$
65,5	—	-	23^0.

I det andet Døgn var altsaa Tiden til en ny Generations Dannelse ved 23^0 over tre Gange saa lang som ved 4^0 og næsten 4 Gange saa lang som ved $13{,}5^0$.

I det hele taget foregik altsaa i det andet Døgn Gjærcellernes Formering ved $13{,}5^0$ med større Hastighed end ved 4^0 og ved 23^0, ved hvilken Temperatur den var meget langsom.

Sammenligning mellem Gjærcellernes Formering i det første og i det andet Døgn ved 4^0, $13{,}5^0$ og 23^0.

En Oversigt over Formeringens Forskjelligheder i det første og i det andet Døgn giver følgende Tabel, hvor de i det foregaaende anvendte Betegnelser ere benyttede, idet $n^0 = 6{,}4$ betegner det i en Rumfangsenhed udsaaede Celleantal, n' og n'' Celleantallet i en Rumfangsenhed efter første og efter andet Døgns Forløb, g' og g'' Generationernes Antal, og t' og t'' Generationstiden i første og andet Døgn.

Temperatur.	Celleantallet.		Celleformeringen.		Celleforfoldigelsen.		Generationstiden.		Generationsantal.	
	n'	n''	$n'-n^0$	$n''-n'$	$\frac{n'}{n^0}$	$\frac{n''}{n'}$	t' i Timer	t'' i Timer	g'	g''
4^0	14,4	33,4	8	19	2,3	2,3	20,0	20,0	1,2	1,2
$13{,}5^0$	30,5	82,6	24,1	52,1	5,0	2,7	10,5	16,7	2,3	1,4
23^0	77,2	97,2	70,8	20	12,8	1,3	6,5	65,5	3,7	0,36

Ved 4^0 foregaar Gjærcellernes Formering i første og andet Døgn med samme Hastighed, idet Forfoldigelsen og Generationstiden i begge Døgn er den samme. Forandringen i Næringsvædskens Sammensætning er saa ringe, at den aldeles ingen Indflydelse har haft paa Formeringen. At Tilvæxten i Celleantallet eller Gjærcellernes Formering i det andet Døgn alligevel er større end i det første Døgn, hidrører derfra, at Celleantallet ved andet Døgns Begyndelse er saa meget større end ved det første Døgns Begyndelse.

Ved $13{,}5^0$ var Celleformeringen i andet Døgn langsommere end i første, idet Forfoldigelsen var mindre, og Tiden til en ny Generations Dannelse var langt større i andet end i første Døgn. Forandringen i Næringsvædsken er allerede saa stor, at den har hæmmende Indflydelse paa Gjærcellernes Formering. Men paa Grund af det større Antal Celler ved andet Døgns Begyndelse er dog Forøgelsen af Celleantallet, Gjærcellernes Formering, større i andet end i første Døgn.

Ved 23^0 var Celleformeringen i andet Døgn overordentlig langsom, idet Gjærcellernes Forfoldigelse var omtrent 10 Gange ringere, og Generationstiden omtrent 10 Gange længere end i første Døgn. Gjærcellernes Formering er i andet Døgn langt mindre end i første Døgn trods det langt større Antal Celler, der findes ved det andet Døgns Begyndelse. — Efter

første Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed ved $13{,}5^0$ C. $16{,}1$ Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 4^0; men efter andet Døgns Forløb var der i en Rumfangsenhed ved $13{,}5^0$ C. $49{,}2$ Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 4^0. Altsaa:

Forskjellen i Celleantallet ved $13{,}5^0$ og 4^0 var efter andet Døgns Forløb meget større end efter første Døgns Forløb.

Efter første Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed ved 23^0 C. $36{,}7$ Celler flere end i en Rumfangsenhed ved $13{,}5^0$, men efter andet Døgns Forløb fandtes der i en Rumfangsenhed ved 23^0 kun $14{,}6$ Celler flere end i en Rumfangsenhed ved $13{,}5^0$. Altsaa:

Ved Slutningen af det andet Døgn var Forskjellen i Celleantallet ved 23^0 og $13{,}5^0$ meget mindre end efter det første Døgns Forløb.

I Begyndelsen var Forskjellen mellem Gjærcelleantallet ved en højere, Optimum ikke overskridende Temperatur og Gjærcelleantallet ved en lavere Temperatur voxende med Tiden, men senere hen blev denne Forskjel aftagende, naar der fra Begyndelsen var udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske.

Fjerde Forsøgsrække. (Forsøg 11 og 12).

Hvor stort er Antallet af Gjærceller efter 8 Døgns Forløb ved $13{,}5^0$ og 23^0, naar der er udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske?

Forsøgene herover ere Fortsættelser af Forsøg 2 og 3.

Resultatet var, at der efter 8 Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed:

$124{,}6$ Celler ved $13{,}5^0$ (Forsøg 11)
og $124{,}0$ — - 23^0 (Forsøg 12),

naar der fra Begyndelsen af var udsaaet $6{,}4$ Celler i hver Rumfangsenhed.

Og Gjærcellernes Forfoldigelse i 8 Døgn var:

$$\frac{20 \times 6{,}23}{6{,}4} \text{ ved } 13{,}5^0$$

$$\text{og } \frac{20 \times 6{,}2}{6{,}4} \text{ ved } 23^0.$$

Altsaa:

Naar der blev udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske ved $13{,}5^0$ C. og ved 23^0 C., var Gjærcellernes Antal efter 8 Døgns Forløb i begge Til-

fælde det samme, og omtrent 20 Gange større end det udsaaede Antal.

Af den hele Undersøgelse fremgaar følgende:

Temperaturen har vel Indflydelse paa den Hastighed, hvormed Gjærcellerne formere sig, men den har ingen Indflydelse paa det Antal Gjærceller, der i det hele taget dannes i en Næringsvædske af den givne Beskaffenhed.

II. Om den Indflydelse, Næringsvædskens Koncentration udøver paa Gjærcellernes Formering.

Undersøgelser over det Spørgsmaal, hvilken Indflydelse Næringsvædskens Vandmængde har paa Gjærcellernes eller andre Cellers Formering, ere mig ikke bekjendte. Men i Følge den mekaniske Theori for Cellens Væxt, hvorom en stor Del af de senere Aars plantefysiologiske Arbejder have drejet sig, og som lader Cellens Turgor, det Tryk, som Celleindhold og Cellehinde udøve paa hinanden, spille en Hovedrolle ved Cellens Væxt, maa man vente, at Næringsvædskens Koncentration vil have en ikke ringe Virkning paa Gjærcellens Væxt og formodentlig ogsaa paa dens Formering. Undersøgelser over dette Spørgsmaal ville derfor foruden deres Betydning for Forstaaelsen af Gjærcellens Livsvirksomhed tillige være af Betydning for den mekaniske Væxttheori.

Hidtil har jeg kun anstillet to Forsøg herom.

Forsøg 13. Tpt. 4° C. Gjærcellernes Formering i det første Døgn i en Næringsvædske af Koncentration $^1/_2$.

Til 50 Kubctm. klar, ikke humlet Urt, med en Vægtfylde af $16{,}2$ % Balling, og som indeholdt $6{,}4$ Celler i en Rumfangsenhed (ligesom i Forsøg 1), blev sat 50 Kubctm. destilleret Vand, og Urten blev derefter stillet i en Tpt. af 4°. Næringsvædsken havde saaledes et dobbelt saa stort Rumfang som i det tidligere beskrevne Forsøg 1, men indeholdt den samme Mængde Næringsstof og den samme Mængde udsaaede Gjærceller. I en Rumfangsenhed fandtes altsaa i Gjennemsnit kun halv saa mange Celler som i Forsøg 1, nemlig $n^0 = 3{,}2$ Celler.

Efter 1 Døgns Forløb var Celleantallet n' i Rumfangsenheden $6{,}54$ ved 4°.

Da Næringsvædskens Rumfang i dette Forsøg er dobbelt saa stort som i Forsøg 1, indeholder den altsaa ogsaa dobbelt saa mange Rumfangsenheder.

Følgelig vil man have:

$$\frac{\text{Gjærcelleantallet i Forsøg 1}}{\text{Gjærcelleantallet i Forsøg 13}} = \frac{14{,}4}{2 \times 6{,}54} = \frac{14{,}4}{13{,}08}$$

Gjærcellernes Forfoldigelse er:

2,3 i Forsøg 1.
2,04 - — 13.

Afvigelserne i Forsøg 1 og 13 ere saa smaa, at de vist nok falde inden for Fejlkildernes Grænser, saa at altsaa Næringsvædskens Fortynding i det her anførte Forhold ingen Indflydelse havde paa Gjærcellernes Formering.

Forsøg 14. Tpt. 13,5°. Gjærcellernes Antal efter 8 Døgns Forløb i en Næringsvædske af Koncentration 1/2.

Forsøget blev udført som Forsøg 13, og der var altsaa i Gjennemsnit udsaaet 3,2 Celler i hver Rumfangsenhed.

Celleantallet i en Rumfangsenhed var efter 8 Døgns Forløb $20 \times 3{,}15 = 63$ Celler.

Gjærcellernes Forfoldigelse var:

$$\frac{20 \times 3{,}15}{3{,}2} = \text{c. } 20.$$

Sammenlignes Forsøg 14 med Forsøg 11 og 12, finder man følgende Forhold mellem Gjærcellernes Antal i hele Vædsken efter 8 Døgns Forløb:

124,6 (Forsøg 11) ved 13,5°.
124,0 (Forsøg 12) - 23°.
126,0 (Forsøg 14) - 13,5°.

Indenfor de her anvendte Grænser var Næringsvædskens Koncentration altsaa uden Indflydelse paa det Antal Gjærceller, der dannede sig i Løbet af 8 Døgn.

En indgaaende Undersøgelse over den Indflydelse Næringsvædskens Koncentrationsgrad udøver paa Gjærcellernes Formering maa jeg forbeholde en nærmere Undersøgelse.

Til yderligere Oplysning om de anførte Forsøg skal jeg endnu meddele Detaillen af de umiddelbare Forsøg og Iagttagelser (Tællingerne), som ligge til Grund for ovenstaaende Meddelelse.

Til 1. **Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering).**

Første Forsøgsrække.

Lidt Gjær paa Spidsen af en Glasstang blev rørt ud og fordelt i 300 Kubctm. filtreret, ikke humlet Urt med en Vægtfylde af 16,2% Balling. Med denne Urt ere alle Forsøgene i alle For-

søgsrækkerne udførte. 50 Kubctm. heraf blev i en aaben Flaske med snever Munding hensat ved 4° (Forsøg 1), 50 Kubctm. ved 13,5° (Forsøg 2), 50 Kubctm. ved 23° (Forsøg 3) og 50 Kubctm. blev anvendt til den foreløbige Bestemmelse af den udsaaede Gjærmængde (Forsøg 0).

Forsøg 0. Bestemmelse af det Antal Gjærceller, der i Gjennemsnit blev udsaaet i en Rumfangsenhed. Det Antal Celler, der ved Tællingen fandtes i hver Rumfangsenhed, ses af følgende Tabel, hvor ogsaa Summen af hver 10 og 10 Tal er anført. De successive Middeltal beregnede af 10, 20, 30 osv. Tal (se p. 47) ere ogsaa udregnede og anførte. Tabellerne i alle de efterfølgende Forsøg ere at forstaa paa samme Maade.

3 + 6 + 4 + 8 + 11 + 7 + 9 + 6 + 10 + 2 = 66.
6 + 7 + 2 + 8 + 8 + 8 + 18 + 4 + 3 + 9 = 74.
4 + 1 + 5 + 5 + 7 + 5 + 6 + 8 + 8 + 1 = 50.
4 + 9 + 9 + 1 + 12 + 19 + 16 + 5 + 3 + 2 = 80.
9 + 4 + 14 + 4 + 6 + 2 + 9 + 2 + 4 + 5 = 59.
1 + 6 + 5 + 8 + 6 + 11 + 5 + 5 + 12 + 4 = 63.
2 + 4 + 4 + 6 + 6 + 4 + 3 + 3 + 5 + 6 = 43.
4 + 15 + 6 + 4 + 10 + 12 + 6 + 7 + 5 + 9 = 78.
6 + 7 + 15 + 1 + 11 + 2 + 5 + 9 + 11 + 3 = 70.
3 + 5 + 2 + 3 + 6 + 6 + 17 + 5 + 6 + 6 = 59.

De successive Middeltal:

66 : 10 = 6,6.
140 : 20 = 7,0.
190 : 30 = 6,33.
270 : 40 = 6,75.
329 : 50 = 6,58.
392 : 60 = 6,53.
435 : 70 = 6,21.
513 : 80 = 6,41.
583 : 90 = 6,47.
642 : 100 = 6,42.

Forsøg I. Gjærcelleformering ved 4° C. efter 1 Døgns Forløb: Celleantal i en Rumfangsenhed:

16 + 13 + 18 + 10 + 12 + 13 + 13 + 9 + 11 + 12 = 127.
9 + 16 + 8 + 14 + 18 + 13 + 14 + 6 + 18 + 11 = 131.
23 + 14 + 26 + 21 + 9 + 17 + 18 + 8 + 13 + 9 = 158.
16 + 11 + 12 + 22 + 16 + 7 + 18 + 14 + 15 + 20 = 153.
15 + 11 + 20 + 19 + 5 + 14 + 7 + 20 + 14 + 24 = 148.

Successive Middeltal:

$127 : 10 = 12{,}7.$
$258 : 20 = 12{,}9.$
$416 : 30 = 13{,}87.$
$569 : 40 = 14{,}23.$
$718 : 50 = 14{,}36.$

Forsøg 2. Gjærcelleformering ved 13,5° C. efter 1 Døgns Forløb. Tællingen udførtes med en Vædske bestaaende af 1 Kubctm. af den gjærende Vædske + 1 Kubctm. Natronlud + 2 Kubctm. Vand = 4 Kubctm. **Fortyndingen altsaa** $^1/_4$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$4 + 1 + 3 + 7 + 14 + 7 + 13 + 9 + 10 + 10 = 78.$
$14 + 6 + 8 + 8 + 9 + 7 + 4 + 4 + 10 + 2 = 72.$
$6 + 13 + 7 + 5 + 6 + 11 + 8 + 11 + 8 + 6 = 87.$
$7 + 8 + 8 + 9 + 7 + 6 + 6 + 7 + 6 + 13 = 77.$
$2 + 7 + 3 + 1 + 15 + 5 + 1 + 19 + 11 + 9 = 73.$

Successive Middeltal:

$78 : 10 = 7{,}8.$
$150 : 20 = 7{,}5.$
$231 : 30 = 7{,}7.$
$308 : 40 = 7{,}7.$
$381 : 50 = 7{,}62.$

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

$$4 \times 7{,}62 = 30{,}48.$$

Forsøg 3. Gjærcelleformering ved 23° efter 1 Døgns Forløb. Tællingen udførtes med en Vædske, bestaaende af 1 Kubctm. Gjæringsvædske + 1 Kubctm. Natronlud + 8 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortyndingen altsaa $^1/_{10}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 5 + 7 + 12 + 3 + 10 + 11 + 6 + 3 + 9 = 72.$
$6 + 9 + 15 + 3 + 11 + 2 + 12 + 8 + 2 + 6 = 74.$
$6 + 7 + 12 + 10 + 8 + 5 + 10 + 12 + 14 + 2 = 86.$
$7 + 12 + 6 + 3 + 11 + 5 + 8 + 10 + 8 + 5 = 75.$
$4 + 2 + 8 + 10 + 10 + 6 + 9 + 16 + 4 + 10 = 79.$

Successive Middeltal:

$72 : 10 = 7{,}2.$
$146 : 20 = 7{,}3.$
$232 : 30 = 7{,}73.$
$307 : 40 = 7{,}67.$
$386 : 50 = 7{,}72.$

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

10 × 7,72 = 77,2.

Anden Forsøgsrække.

Spor af Gjær blev fordelt i 300 Kubctm. filtreret, ikke humlet Urt. 50 Kubctm. heraf blev hensat i en aaben Flaske ved 23° (Fors. 4), 50 Kubctm. ved 28° (Fors. 5), 50 Kubctm. ved 34° (Fors. 6), 50 Kubctm. ved 38° (Fors. 7).

Forsøg 4. Gjærcelleformering ved 23° efter 1 Døgns Forløb.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

9 + 5 + 4 + 9 + 11 + 11 + 8 + 8 + 5 + 6 = 80.
6 + 7 + 5 + 5 + 3 + 9 + 5 + 3 + 3 + 12 = 58.
10 + 3 + 3 + 6 + 12 + 9 + 10 + 7 + 5 + 11 = 86.
1 + 8 + 7 + 5 + 1 + 10 + 3 + 13 + 14 + 12 = 74.
7 + 7 + 9 + 5 + 19 + 8 + 16 + 9 + 5 + 7 = 92.
10 + 14 + 3 + 5 + 8 + 5 + 4 + 6 + 7 + 7 = 69.
20 + 7 + 16 + 4 + 5 + 4 + 12 + 6 + 15 + 7 = 96.
2 + 15 + 10 + 7 + 7 + 11 + 8 + 9 + 6 + 7 = 82.
15 + 6 + 13 + 15 + 6 + 8 + 12 + 5 + 10 + 7 = 87.
13 + 8 + 5 + 15 + 1 + 8 + 5 + 11 + 3 + 3 = 72.

De successive Middeltal:

80 : 10 = 8,0.
138 : 20 = 6,9.
224 : 30 = 7,46.
298 : 40 = 7,45.
390 : 50 = 7,80.
459 : 60 = 7,65.
555 : 70 = 7,93.
637 : 80 = 7,96.
724 : 90 = 8,04.
796 : 100 = 7,96.

Forsøg 5. Gjærcelleformering ved 28° efter 1 Døgns Forløb.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

6 + 9 + 13 + 7 + 11 + 14 + 15 + 18 + 12 + 6 = 111.
17 + 16 + 13 + 12 + 5 + 12 + 9 + 10 + 10 + 12 = 116.
8 + 10 + 13 + 6 + 11 + 8 + 3 + 15 + 10 + 7 = 91.
12 + 13 + 12 + 12 + 13 + 9 + 12 + 11 + 17 + 12 = 123.
13 + 14 + 13 + 10 + 8 + 7 + 14 + 14 + 11 + 7 = 111.
6 + 16 + 5 + 14 + 11 + 11 + 10 + 19 + 10 + 14 = 116.
11 + 14 + 8 + 15 + 8 + 11 + 9 + 14 + 9 + 15 = 114.
13 + 8 + 13 + 16 + 3 + 16 + 10 + 5 + 10 + 9 = 103.
8 + 9 + 7 + 10 + 12 + 14 + 5 + 18 + 19 + 11 = 113.
15 + 16 + 11 + 6 + 8 + 4 + 9 + 16 + 13 + 11 = 109.

De successive Middeltal:

111 : 10 = 11,1.
227 : 20 = 11,35.
318 : 30 = 10,60.
441 : 40 = 11,02.
552 : 50 = 11,04.
668 : 60 = 11,13.
782 : 70 = 11,17.
885 : 80 = 11,06.
998 : 90 = 11,09.
1107 : 100 = 11,07.

Forsøg 6. Gjærcelleformering ved 34° efter 1 Døgns Forløb. Mange Celler vakuoliserede, nogle kornede, ofte Cellekjæder, hyppig pølseformede Celler, dels frie og dels sammenhængende med runde Celler. Mange Bakterier.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

9 + 2 + 2 + 2 + 1 + 4 + 5 + 6 + 3 + 9 = 43.
5 + 3 + 8 + 1 + 3 + 6 + 4 + 2 + 5 + 1 = 38.
1 + 4 + 4 + 1 + 1 + 1 + 2 + 7 + 5 + 2 = 28.
5 + 5 + 6 + 3 + 1 + 1 + 14 + 9 + 2 + 3 = 49.
3 + 3 + 1 + 5 + 4 + 2 + 1 + 3 + 1 + 4 = 27.
3 + 2 + 4 + 2 + 7 + 2 + 5 + 1 + 5 + 7 = 38.
3 + 2 + 7 + 2 + 4 + 9 + 12 + 7 + 1 + 2 = 49.
5 + 6 + 11 + 4 + 5 + 3 + 2 + 2 + 3 + 3 = 44.
3 + 1 + 4 + 2 + 3 + 5 + 7 + 2 + 3 + 9 = 39.
4 + 5 + 2 + 4 + 2 + 8 + 3 + 6 + 4 + 2 = 40.

De successive Middeltal:

43 : 10 = 4,3.
81 : 20 = 4,05.
109 : 30 = 3,63.
158 : 40 = 3,95.
185 : 50 = 3,70.
223 : 60 = 3,71.
272 : 70 = 3,89.
316 : 80 = 3,95.
355 : 90 = 3,94.
395 : 100 = 3,95.

Forsøg 7. Gjærcelleformering ved 38° efter 1 Døgns Forløb. Ikke 1 Celle i hvert Felt; ingen Celler har Knopper. Mange Bakterier.

Tredie Forsøgsrække. Gjærcelleformering efter 2 Døgns Forløb.

Forsøg 8. Fortsættelse af Forsøg 1. Tpt. 4^0, 1 Kubctm. + 9 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding $^1/_{10}$.

Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$2 + 4 + 4 + 7 + 1 + 6 + 1 + 1 + 0 + 1 = 27.$$
$$7 + 2 + 5 + 6 + 1 + 1 + 8 + 5 + 1 + 6 = 42.$$
$$1 + 1 + 4 + 7 + 1 + 2 + 6 + 5 + 1 + 2 = 30.$$
$$3 + 5 + 2 + 10 + 3 + 3 + 4 + 2 + 3 + 3 = 38.$$
$$1 + 1 + 1 + 9 + 6 + 3 + 2 + 2 + 4 + 1 = 30.$$

De successive Middeltal:

$$27 : 10 = 2{,}7.$$
$$69 : 20 = 3{,}45.$$
$$99 : 30 = 3{,}30.$$
$$137 : 40 = 3{,}42.$$
$$167 : 50 = 3{,}34.$$

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

33,4.

Forsøg 9. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. $13{,}5^0$. 1 Kubctm. Vædske + 1 Kubctm. Natronlud + 8 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding $^1/_{10}$.

Gjærcellernes Antal i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$9 + 12 + 14 + 13 + 13 + 3 + 15 + 11 + 4 + 3 = 97.$$
$$3 + 15 + 4 + 3 + 4 + 9 + 12 + 7 + 5 + 5 = 67.$$
$$3 + 11 + 5 + 9 + 3 + 9 + 4 + 7 + 7 + 14 = 72.$$
$$6 + 9 + 10 + 8 + 16 + 14 + 9 + 11 + 6 + 8 = 97.$$
$$6 + 10 + 10 + 11 + 10 + 6 + 5 + 6 + 8 + 8 = 80.$$

De successive Middeltal:

$$97 : 10 = 9{,}7.$$
$$164 : 20 = 8{,}2.$$
$$236 : 30 = 7{,}87.$$
$$333 : 40 = 8{,}32.$$
$$413 : 50 = 8{,}26.$$

I den ufortyndede Vædske indeholder Rumfangsenheden altsaa i Gjennemsnit 82,6 Celler.

Forsøg 10. Fortsættelse af Forsøg 3. Tpt. 23^0. 1 Kubctm. Vædske + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortyndingen $^1/_{20}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 4 + 6 + 4 + 5 + 6 + 5 + 3 + 6 + 5 = 50.$
$8 + 7 + 6 + 3 + 3 + 9 + 7 + 4 + 6 + 4 = 57.$
$6 + 7 + 6 + 6 + 5 + 4 + 3 + 6 + 3 + 2 = 48.$
$6 + 9 + 3 + 6 + 3 + 6 + 2 + 5 + 1 + 3 = 44.$
$6 + 5 + 3 + 5 + 3 + 6 + 7 + 2 + 5 + 2 = 44.$

De successive Middeltal:

$50 : 10 = 5{,}00.$
$107 : 20 = 5{,}35.$
$155 : 30 = 5{,}16.$
$199 : 40 = 4{,}97.$
$243 : 50 = 4{,}86.$

Altsaa findes der gjennemsnitlig i en Rumfangsenhed af den ufortyndede Vædske:

$$20 \times 4{,}86 = 97{,}2 \text{ Celler.}$$

Fjerde Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering efter 8 Døgns Forløb.

Forsøg 11. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. 13,5°. 1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortynding $^1/_{20}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 6 + 8 + 6 + 6 + 5 + 7 + 9 + 6 + 1 = 60.$
$3 + 5 + 2 + 4 + 6 + 8 + 5 + 2 + 2 + 8 = 45.$
$10 + 2 + 6 + 1 + 9 + 7 + 8 + 6 + 2 + 6 = 57.$
$6 + 10 + 8 + 10 + 9 + 7 + 2 + 2 + 4 + 8 = 66.$
$11 + 3 + 8 + 9 + 10 + 4 + 3 + 6 + 9 + 5 = 68.$
$7 + 13 + 7 + 4 + 5 + 11 + 5 + 6 + 2 + 2 = 62.$
$4 + 10 + 6 + 13 + 2 + 6 + 2 + 4 + 13 + 9 = 69.$
$6 + 1 + 14 + 10 + 8 + 10 + 6 + 4 + 2 + 2 = 63.$
$3 + 13 + 12 + 2 + 7 + 2 + 3 + 10 + 4 + 7 = 63.$
$3 + 4 + 9 + 10 + 5 + 15 + 5 + 9 + 6 + 4 = 70.$

De successive Middeltal:

$60 : 10 = 6{,}0.$
$105 : 20 = 5{,}25.$
$162 : 30 = 5{,}40.$
$228 : 40 = 5{,}70.$
$296 : 50 = 5{,}92.$
$358 : 60 = 5{,}97.$
$427 : 70 = 6{,}10.$
$490 : 80 = 6{,}12.$
$553 : 90 = 6{,}14.$
$623 : 100 = 6{,}23.$

I en Rumfangsenhed af den ufortyndede **Vædske findes altsaa** i Gjennemsnit:

$$20 \times 6{,}23 = 124{,}6 \text{ Celler.}$$

Forsøg 12. Fortsættelse af Forsøg 3. Tpt. 23°. 1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortynding 1/20.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$5 + 8 + 5 + 3 + 6 + 8 + 4 + 5 + 4 + 5 = 53.$
$7 + 4 + 9 + 8 + 9 + 10 + 10 + 12 + 6 + 1 = 76.$
$4 + 6 + 4 + 8 + 7 + 3 + 4 + 7 + 13 + 5 = 61.$
$8 + 3 + 8 + 3 + 8 + 11 + 4 + 6 + 5 + 5 = 61.$
$8 + 9 + 1 + 5 + 4 + 8 + 5 + 10 + 4 + 5 = 59.$

De successive Middeltal:

$53 : 10 = 5{,}3.$
$129 : 20 = 6{,}45.$
$190 : 30 = 6{,}33.$
$251 : 40 = 6{,}27.$
$310 : 50 = 6{,}20.$

I den ufortyndede Vædske indeholder Rumfangsenheden altsaa i Gjennemsnit:

$$20 \times 6{,}2 = 124 \text{ Celler.}$$

Til II (Om den Indflydelse, Næringsvædskens Koncentration udøver paa Gjærcellernes Formering).

Forsøg 13. Tpt. 4° C. Til 50 Kubctm. Urt, der indeholdt samme Antal Gjærceller som i Forsøg 1 (altsaa 6,4 i en Rumfangsenhed), blev sat 50 Kubctm. destilleret Vand i en aaben Flaske. Næringsvædskens Koncentration var altsaa kun halv saa stor som i Forsøg 1. Gjærcelleantallet blev bestemt efter 1 Døgns Forløb.

Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed efter 1 Døgns Forløb:

$4 + 13 + 4 + 4 + 5 + 8 + 2 + 8 + 7 + 6 = 61.$
$6 + 7 + 2 + 12 + 2 + 9 + 9 + 7 + 9 + 8 = 71.$
$8 + 1 + 9 + 10 + 8 + 9 + 0 + 2 + 10 + 6 = 63.$
$3 + 7 + 5 + 18 + 4 + 6 + 7 + 6 + 5 + 4 = 65.$
$8 + 6 + 9 + 4 + 4 + 6 + 9 + 9 + 8 + 3 = 67.$

De successive Middeltal:

$61 : 10 = 6{,}1.$
$132 : 20 = 6{,}6.$
$195 : 30 = 6{,}5.$
$260 : 40 = 6{,}5.$
$327 : 50 = 6{,}54.$



Formeringen foregaar hurtigst, og et Temperatur-Maximum, ved hvilket den hører op. Forsøgene bleve udførte som i den første Forsøgsrække; men den udsaaede Gjærmængde var saa lille, at der i Gjennemsnit ikke fandtes 1 Celle i hver Rumfangsenhed, hvorfor Gjærcelleantallet efter et Døgns Forløb maatte blive absolut mindre end i første Række.

Resultatet var følgende:

Gjennemsnits-Antallet af Gjærceller i en Rumfangsenhed var efter 1 Døgns Forløb:

8 (nøjagtig 7,96) Celler ved 23° (Forsøg 4)
11 (nøjagtig 11,07) — - 28° (Forsøg 5)
4 (nøjagtig 3,95) — - 34° (Forsøg 6)
og ingen Celleformering ved 38° (Forsøg 7).

Denne Forsøgsrække kan ikke uden videre sammenlignes med den første Forsøgsrække. Førend en Sammenligning kan finde Sted, maa man udregne, hvilke Tal man vilde have faaet, hvis Antallet af udsaaede Gjærceller havde været det samme i begge Rækker. Da man ikke kjender Antallet af de i en Rumfangsenhed udsaaede Celler i den anden Forsøgsrække, maa dette Antal først udregnes, hvilket kan ske, da vi i begge Rækker have et Forsøg ved den samme Temperatur, nemlig Forsøgene ved 23°. Vi finde da, at der i Gjennemsnit har været udsaaet $^5/_8$ Celle i hver Rumfangsenhed; det vil sige: der har været 5 Celler i 8 Rumfangsenheder. Man kan nu ogsaa udregne, hvor stort Celleantallet vilde være blevet, hvis der var blevet udsaaet 6,4 Celler i hver Rumfangsenhed i den anden Forsøgsrække ligesom i den første.

Man kommer herved til følgende Resultat:

Naar der i en Rumfangsenhed udsaas 6,4 Gjærceller, saa vil Gjennemsnits-Antallet af Gjærceller, der findes i en Rumfangsenhed efter det første Døgns Forløb, være:

112,6 Celler ved 28°
og 40,9 — - 34°.

Altsaa er Gjærcellernes Formering $(n' - n^0)$ i en Rumfangsenhed efter det første Døgns Forløb:

106,2 Celler ved 28°
34,5 — - 34°,

naar der fra Begyndelsen af udsaas 6,4 Celler i Rumfangsenheden.

Og Gjærcellernes Forfoldigelse $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ i det første Døgn vil være:

17,6 ved 28°
6,4 - 34°

Det Antal Cellegenerationer, der danner sig i det første Døgn, vil være:

4,1	ved	28°
2,6	-	34°

Følgelig vil Generationstiden eller Tiden til en Cellegenerations Dannelse i det første Døgn være:

5,8	Timer	ved	28°
9,0	—	-	34°.

Sammenfatning af begge Forsøgsrækker.

For bedre Oversigts Skyld ville vi sammenstille Resultatet af begge Forsøgsrækker, idet vi angive Forholdstallene af det hele Antal Gjærceller efter første Døgns Forløb ved de forskjellige Temperaturer, naar det oprindelig udsaaede Antal Gjærceller sættes lig 100.

Naar det ved hvert Forsøg udsaaede Antal Gjærceller sættes lig 100, saa vil det hele Antal Gjærceller ved Slutningen af det første Døgn være:

225	ved	4°
476	-	13,5°
1206	-	23°
1759	-	28°
639	-	34°
100	-	38°

Af disse Forholdstal for det hele Antal Gjærceller faas Forholdstallene for Gjærcellernes Formering ved Subtraktion af 100, og Forholdstallene for Gjærcellernes Forfoldigelse faas ved Division med 100.

Et samlet Overblik over den Tid, som behøves til Dannelsen af en Generation, faar man af følgende Tabel:

Generationstiden var			
20	Timer	ved	4°
10,5	—	-	13,5°
6,5	—	-	23°
5,8	—	-	28°
9,0	—	-	34°

En mere anskuelig Forestilling om Gjærcelleformeringens Afhængighed af Temperaturen, end man faar ved den blotte Betragtning af Tallene, giver den grafiske Fremstilling ved Hjælp af Kurver, hvor Varmegraden afsættes som Abscisser, og det til den paagjæl-



dende Temperatur svarende Gjærcelle-Antal, eller den tilsvarende Gjærcelleformering eller Gjærcelleforfoldigelsen eller Gjærcellernes Generationstid som Ordinater. Ved Hjælp af disse Kurver kan man ogsaa kontrollere de fundne Tals Nøjagtighed. — Paa den medfølgende Tavle I. fremstiller Kurven Nr. 1 Gjærcellernes Antalskurve. Gjærcellernes Formeringskurve er ikke konstrueret, da den jo vil være parallel med Antalskurven og altsaa have samme Form som denne. Kurven Nr. 2 er Gjærcellernes Forfoldigelseskurve, og Nr. 3 er Kurven for Gjærcellernes Generationstid.

Af Iagttagelserne kunne følgende Sætninger udledes:

Den Hastighed, hvormed Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ formerer sig i den af mig anvendte ikke humlede Urt, er voxende med Temperaturen, dog ikke i et proportionalt Forhold, indtil et Temperatur-Optimum, der ligger mellem 28° og 34° C., men sandsynligvis nærmest ved 28°. Overskrides Temperaturens Optimum, saa aftager Formeringens Hastighed stærkt indtil et Temperatur-Maximum, der ikke ligger over 38°, og ved hvilket Gjærcellernes Formering ophører.

Hvad angaar Formerne af Gjærcellernes Formeringskurver, da kan jeg af de foreliggende Iagttagelser kun bestemme definitivt det Stykke af Kurverne, der ligger mellem 4° og 28°, eller Kurvernes første Gren. Herom gjælde følgende Sætninger:

Mellem 4° og 28° ere Kurverne for Gjærcellernes **Antal** saavel som for deres **Formering** og for deres **Forfoldigelse,** betragtede som Funktioner af Temperaturen, krumme Linier, der ere opad stigende og vende deres konvexe Side mod Abscisseaxen.

Mellem 4° og 28° er Kurven for Gjærcellernes **Generationstid,** betragtet som Funktion af Temperaturen, en krum Linie, der er nedad stigende og vender den konvexe Side mod Abscisseaxen.

Hvad Kurvernes anden Gren angaar, da kan jeg foreløbig kun sige, at den har sikkert en anden Form end den første Gren; men nærmere Undersøgelse heraf og af Maaden, hvorpaa Kurvernes to Grene forbindes, og overhovedet nærmere Undersøgelse af Gjærcellernes Formering ved Varmegrader over 28° C. maa jeg forbeholde en nærmere Undersøgelse.

Tredje Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering i det andet Døgn ved 4°, 13,5° og 23° C. (Forsøg 8—10.)

Forsøgene i denne Række ere Fortsættelser af Forsøgene 1—3 i den første Række, efter at de til Tællingen nødvendige Prøver af 1 Kubctm. vare udtagne.

Gjennemsnits-Antallet (n″) af Gjærceller i en Rumfangsenhed, hvori der var udsaaet 6,4 Celler, var efter 2 Døgns Forløb:

33,4 Celler ved 4° (Forsøg 8)
82,6 — - 13,5° (Forsøg 9)
97,2 — - 23° (Forsøg 10).

Altsaa var Gjærcellernes Formering (n″—n′) i en Rumfangsenhed, der oprindelig indeholdt 6,4 Celler, i det andet Døgn:

19 Celler ved 4°
52,1 — - 13,5°
20 — - 23°.

I andet Døgn var følgelig Gjærcellernes Formering størst ved 13,5° og omtrent lige stor ved 4° og 23°.

Gjærcellernes Forfoldigelse $\left(\frac{n''}{n'}\right)$ i det andet Døgn var:

2,3 ved 4°
2,7 - 13,5°
1,3 - 23°.

Forfoldigelsen var altsaa i det andet Døgn størst ved 13,5°, lidt mindre ved 4° og mindst ved 23°.

Det Antal Cellegenerationer (g″), der dannede sig i det andet Døgn, var:

1,2 ved 4°
1,4 - 13,5°
0,36 - 23°.

Generationstiden (t″) var i det andet Døgn:

20 Timer ved 4°
16,7 — - 13,5°
65,5 — - 23°.

I det andet Døgn var altsaa Tiden til en ny Generations Dannelse ved 23° over tre Gange saa lang som ved 4° og næsten 4 Gange saa lang som ved 13,5°.

I det hele taget foregik altsaa i det andet Døgn Gjærcellernes Formering ved 13,5° med større Hastighed end ved 4° og ved 23°, ved hvilken Temperatur den var meget langsom.

Sammenligning mellem Gjærcellernes Formering i det første og i det andet Døgn ved 4°, 13,5° og 23°.

En Oversigt over Formeringens Forskjelligheder i det første og i det andet Døgn giver følgende Tabel, hvor de i det foregaaende anvendte Betegnelser ere benyttede, idet $n^0 = 6{,}4$ betegner det i en Rumfangsenhed udsaaede Celleantal, n' og n'' Celleantallet i en Rumfangsenhed efter første og efter andet Døgns Forløb, g' og g'' Generationernes Antal, og t' og t'' Generationstiden i første og andet Døgn.

Temperatur.	Celleantallet.		Celleformeringen.		Celleforfoldigelsen.		Generationstiden.		Generationsantal.	
	n'	n''	$n'-n^0$	$n''-n'$	$\frac{n'}{n^0}$	$\frac{n''}{n'}$	t' i Timer	t'' i Timer	g'	g''
4°	14,4	33,4	8	19	2,3	2,3	20,0	20,0	1,2	1,2
13,5°	30,5	82,6	24,1	52,1	5,0	2,7	10,5	16,7	2,3	1,4
23°	77,2	97,2	70,8	20	12,8	1,3	6,5	65,3	3,7	0,36

Ved 4° foregaar Gjærcellernes Formering i første og andet Døgn med samme Hastighed, idet Forfoldigelsen og Generationstiden i begge Døgn er den samme. Forandringen i Næringsvædskens Sammensætning er saa ringe, at den aldeles ingen Indflydelse har haft paa Formeringen. At Tilvæxten i Celleantallet eller Gjærcellernes Formering i det andet Døgn alligevel er større end i det første Døgn, hidrører derfra, at Celleantallet ved andet Døgns Begyndelse er saa meget større end ved det første Døgns Begyndelse.

Ved 13,5° var Celleformeringen i andet Døgn langsommere end i første, idet Forfoldigelsen var mindre, og Tiden til en ny Generations Dannelse var langt større i andet end i første Døgn. Forandringen i Næringsvædsken er allerede saa stor, at den har hæmmende Indflydelse paa Gjærcellernes Formering. Men paa Grund af det større Antal Celler ved andet Døgns Begyndelse er dog Forøgelsen af Celleantallet, Gjærcellernes Formering, større i andet end i første Døgn.

Ved 23° var Celleformeringen i andet Døgn overordentlig langsom, idet Gjærcellernes Forfoldigelse var omtrent 10 Gange ringere, og Generationstiden omtrent 10 Gange længere end i første Døgn. Gjærcellernes Formering er i andet Døgn langt mindre end i første Døgn trods det langt større Antal Celler, der findes ved det andet Døgns Begyndelse. — Efter

første Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed ved 13,5° C. 16,1 Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 4°; men efter andet Døgns Forløb var der i en Rumfangsenhed ved 13,5° C. 49,2 Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 4°. Altsaa:

Forskjellen i Celleantallet ved 13,5° og 4° var efter andet Døgns Forløb meget større end efter første Døgns Forløb.

Efter første Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed ved 23° C. 36,7 Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 13,5°, men efter andet Døgns Forløb fandtes der i en Rumfangsenhed ved 23° kun 14,6 Celler flere end i en Rumfangsenhed ved 13,5°. Altsaa:

Ved Slutningen af det andet Døgn var Forskjellen i Celleantallet ved 23° og 13,5° meget mindre end efter det første Døgns Forløb.

I Begyndelsen var Forskjellen mellem Gjærcelleantallet ved en højere, Optimum ikke overskridende Temperatur og Gjærcelleantallet ved en lavere Temperatur voxende med Tiden, men senere hen blev denne Forskjel aftagende, naar der fra Begyndelsen var udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske.

Fjerde Forsøgsrække. (Forsøg 11 og 12).

Hvor stort er Antallet af Gjærceller efter 8 Døgns Forløb ved 13,5° og 23°, naar der er udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske?

Forsøgene herover ere Fortsættelser af Forsøg 2 og 3.

Resultatet var, at der efter 8 Døgns Forløb fandtes i en Rumfangsenhed:

124,6 Celler ved 13,5° (Forsøg 11)
og 124,0 — - 23° (Forsøg 12),

naar der fra Begyndelsen af var udsaaet 6,4 Celler i hver Rumfangsenhed.

Og Gjærcellernes Forfoldigelse i 8 Døgn var:

$$\frac{20 \times 6{,}23}{6{,}4} \text{ ved } 13{,}5^0$$

$$\text{og } \frac{20 \times 6{,}2}{6{,}4} \text{ ved } 23^0.$$

Altsaa:

Naar der blev udsaaet lige mange Gjærceller i den samme Mængde Næringsvædske ved 13,5° C. og ved 23° C., var Gjærcellernes Antal efter 8 Døgns Forløb i begge Til-

fælde det samme, og omtrent 20 Gange større end det udsaaede Antal.

Af den hele Undersøgelse fremgaar følgende:

Temperaturen har vel Indflydelse paa den Hastighed, hvormed Gjærcellerne formere sig, men den har ingen Indflydelse paa det Antal Gjærceller, der i det hele taget dannes i en Næringsvædske af den givne Beskaffenhed.

II. Om den Indflydelse, Næringsvædskens Koncentration udøver paa Gjærcellernes Formering.

Undersøgelser over det Spørgsmaal, hvilken Indflydelse Næringsvædskens Vandmængde har paa Gjærcellernes eller andre Cellers Formering, ere mig ikke bekjendte. Men i Følge den mekaniske Theori for Cellens Væxt, hvorom en stor Del af de senere Aars plantefysiologiske Arbejder have drejet sig, og som lader Cellens Turgor, det Tryk, som Celleindhold og Cellehinde udøve paa hinanden, spille en Hovedrolle ved Cellens Væxt, maa man vente, at Næringsvædskens Koncentration vil have en ikke ringe Virkning paa Gjærcellens Væxt og formodentlig ogsaa paa dens Formering. Undersøgelser over dette Spørgsmaal ville derfor foruden deres Betydning for Forstaaelsen af Gjærcellens Livsvirksomhed tillige være af Betydning for den mekaniske Væxttheori.

Hidtil har jeg kun anstillet to Forsøg herom.

Forsøg 13. Tpt. 4° C. Gjærcellernes Formering i det første Døgn i en Næringsvædske af Koncentration $^1/_2$.

Til 50 Kubctm. klar, ikke humlet Urt, med en Vægtfylde af 16,2 % Balling, og som indeholdt 6,4 Celler i en Rumfangsenhed (ligesom i Forsøg 1), blev sat 50 Kubctm. destilleret Vand, og Urten blev derefter stillet i en Tpt. af 4°. Næringsvædsken havde saaledes et dobbelt saa stort Rumfang som i det tidligere beskrevne Forsøg 1, men indeholdt den samme Mængde Næringsstof og den samme Mængde udsaaede Gjærceller. I en Rumfangsenhed fandtes altsaa i Gjennemsnit kun halv saa mange Celler som i Forsøg 1, nemlig $n^0 = 3{,}2$ Celler.

Efter 1 Døgns Forløb var Celleantallet n' i Rumfangsenheden 6,54 ved 4°.

Da Næringsvædskens Rumfang i dette Forsøg er dobbelt saa stort som i Forsøg 1, indeholder den altsaa ogsaa dobbelt saa mange Rumfangsenheder.

Følgelig vil man have:

$$\frac{\text{Gjærcelleantallet i Forsøg 1}}{\text{Gjærcelleantallet i Forsøg 13}} = \frac{14{,}4}{2 \times 6{,}54} = \frac{14{,}4}{13{,}08}$$

Gjærcellernes Forfoldigelse er:

2,3 i Forsøg 1.
2,04 - — 13.

Afvigelserne i Forsøg 1 og 13 ere saa smaa, at de vist nok falde inden for Fejlkildernes Grænser, saa at altsaa Næringsvædskens Fortynding i det her anførte Forhold ingen Indflydelse havde paa Gjærcellernes Formering.

Forsøg 14. Tpt. 13,5°. Gjærcellernes Antal efter 8 Døgns Forløb i en Næringsvædske af Koncentration ½.

Forsøget blev udført som Forsøg 13, og der var altsaa i Gjennemsnit udsaaet 3,2 Celler i hver Rumfangsenhed.

Celleantallet i en Rumfangsenhed var efter 8 Døgns Forløb $20 \times 3{,}15 = 63$ Celler.

Gjærcellernes Forfoldigelse var:

$$\frac{20 \times 3{,}15}{3{,}2} = \text{c. } 20.$$

Sammenlignes Forsøg 14 med Forsøg 11 og 12, finder man følgende Forhold mellem Gjærcellernes Antal i hele Vædsken efter 8 Døgns Forløb:

124,6 (Forsøg 11) ved 13,5°.
124,0 (Forsøg 12) - 23°.
126,0 (Forsøg 14) - 13,5°.

Indenfor de her anvendte Grænser var Næringsvædskens Koncentration altsaa uden Indflydelse paa det Antal Gjærceller, der dannede sig i Løbet af 8 Døgn.

En indgaaende Undersøgelse over den Indflydelse Næringsvædskens Koncentrationsgrad udøver paa Gjærcellernes Formering maa jeg forbeholde en nærmere Undersøgelse.

Til yderligere Oplysning om de anførte Forsøg skal jeg endnu meddele Detaillen af de umiddelbare Forsøg og Iagttagelser (Tællingerne), som ligge til Grund for ovenstaaende Meddelelse.

Til 1. **Varmens Indflydelse paa Gjærcellernes Formering).**

Første Forsøgsrække.

Lidt Gjær paa Spidsen af en Glasstang blev rørt ud og fordelt i 300 Kubctm. filtreret, ikke humlet Urt med en Vægtfylde af 16,2% Balling. Med denne Urt ere alle Forsøgene i alle For-

søgsrækkerne udførte. 50 Kubctm. heraf blev i en aaben Flaske med snever Munding hensat ved 4° (Forsøg 1), 50 Kubctm. ved 13,5° (Forsøg 2), 50 Kubctm. ved 23° (Forsøg 3) og 50 Kubctm. blev anvendt til den foreløbige Bestemmelse af den udsaaede Gjærmængde (Forsøg 0).

Forsøg 0. Bestemmelse af det Antal Gjærceller, der i Gjennemsnit blev udsaaet i en Rumfangsenhed. Det Antal Celler, der ved Tællingen fandtes i hver Rumfangsenhed, ses af følgende Tabel, hvor ogsaa Summen af hver 10 og 10 Tal er anført. De successive Middeltal beregnede af 10, 20, 30 osv. Tal (se p. 47) ere ogsaa udregnede og anførte. Tabellerne i alle de efterfølgende Forsøg ere at forstaa paa samme Maade.

3 + 6 + 4 + 8 + 11 + 7 + 9 + 6 + 10 + 2 = 66.
6 + 7 + 2 + 8 + 8 + 8 + 18 + 4 + 3 + 9 = 74.
4 + 1 + 5 + 5 + 7 + 5 + 6 + 8 + 8 + 1 = 50.
4 + 9 + 9 + 1 + 12 + 19 + 16 + 5 + 3 + 2 = 80.
9 + 4 + 14 + 4 + 6 + 2 + 9 + 2 + 4 + 5 = 59.
1 + 6 + 5 + 8 + 6 + 11 + 5 + 5 + 12 + 4 = 63.
2 + 4 + 4 + 6 + 6 + 4 + 3 + 3 + 5 + 6 = 43.
4 + 15 + 6 + 4 + 10 + 12 + 6 + 7 + 5 + 9 = 78.
6 + 7 + 15 + 1 + 11 + 2 + 5 + 9 + 11 + 3 = 70.
3 + 5 + 2 + 3 + 6 + 6 + 17 + 5 + 6 + 6 = 59.

De successive Middeltal:

66 : 10 = 6,6.
140 : 20 = 7,0.
190 : 30 = 6,33.
270 : 40 = 6,75.
329 : 50 = 6,58.
392 : 60 = 6,53.
435 : 70 = 6,21.
513 : 80 = 6,41.
583 : 90 = 6,47.
642 : 100 = 6,42.

Forsøg I. Gjærcelleformering ved 4° C. efter 1 Døgns Forløb: Celleantal i en Rumfangsenhed:

16 + 13 + 18 + 10 + 12 + 13 + 13 + 9 + 11 + 12 = 127.
9 + 16 + 8 + 14 + 18 + 13 + 14 + 6 + 18 + 11 = 131.
23 + 14 + 26 + 21 + 9 + 17 + 18 + 8 + 13 + 9 = 158.
16 + 11 + 12 + 22 + 16 + 7 + 18 + 14 + 15 + 20 = 153.
15 + 11 + 20 + 19 + 5 + 14 + 7 + 20 + 14 + 24 = 148.

Successive Middeltal:

$127 : 10 = 12{,}7$.
$258 : 20 = 12{,}9$.
$416 : 30 = 13{,}87$.
$569 : 40 = 14{,}23$.
$718 : 50 = 14{,}36$.

Forsøg 2. Gjærcelleformering ved $13{,}5^0$ C. efter 1 Døgns Forløb. Tællingen udførtes med en Vædske bestaaende af 1 Kubctm. af den gjærende Vædske + 1 Kubctm. Natronlud + 2 Kubctm. Vand = 4 Kubctm. Fortyndingen altsaa $^1/_4$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$4 + 1 + 3 + 7 + 14 + 7 + 13 + 9 + 10 + 10 = 78.$
$14 + 6 + 8 + 8 + 9 + 7 + 4 + 4 + 10 + 2 = 72.$
$6 + 13 + 7 + 5 + 6 + 11 + 8 + 11 + 8 + 6 = 87.$
$7 + 8 + 8 + 9 + 7 + 6 + 6 + 7 + 6 + 13 = 77.$
$2 + 7 + 3 + 1 + 15 + 5 + 1 + 19 + 11 + 9 = 73.$

Successive Middeltal:

$78 : 10 = 7{,}8$.
$150 : 20 = 7{,}5$.
$231 : 30 = 7{,}7$.
$308 : 40 = 7{,}7$.
$381 : 50 = 7{,}62$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

$$4 \times 7{,}62 = 30{,}48.$$

Forsøg 3. Gjærcelleformering ved 23^0 efter 1 Døgns Forløb. Tællingen udførtes med en Vædske, bestaaende af 1 Kubctm. Gjæringsvædske + 1 Kubctm. Natronlud + 8 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortyndingen altsaa $^1/_{10}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 5 + 7 + 12 + 3 + 10 + 11 + 6 + 3 + 9 = 72.$
$6 + 9 + 15 + 3 + 11 + 2 + 12 + 8 + 2 + 6 = 74.$
$6 + 7 + 12 + 10 + 8 + 5 + 10 + 12 + 14 + 2 = 86.$
$7 + 12 + 6 + 3 + 11 + 5 + 8 + 10 + 8 + 5 = 75.$
$4 + 2 + 8 + 10 + 10 + 6 + 9 + 16 + 4 + 10 = 79.$

Successive Middeltal:

$72 : 10 = 7{,}2$.
$146 : 20 = 7{,}3$.
$232 : 30 = 7{,}73$.
$307 : 40 = 7{,}67$.
$386 : 50 = 7{,}72$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

10 × 7,72 = 77,2.

Anden Forsøgsrække.

Spor af Gjær blev fordelt i 300 Kubctm. filtreret, ikke humlet Urt. 50 Kubctm. heraf blev hensat i en aaben Flaske ved 23° (Fors. 4), 50 Kubctm. ved 28° (Fors. 5), 50 Kubctm. ved 34° (Fors. 6), 50 Kubctm. ved 38° (Fors. 7).

Forsøg 4. Gjærcelleformering ved 23° efter 1 Døgns Forløb.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

9 + 5 + 4 + 9 + 11 + 11 + 8 + 8 + 5 + 6 = 80.
6 + 7 + 5 + 5 + 3 + 9 + 5 + 3 + 3 + 12 = 58.
10 + 3 + 3 + 6 + 12 + 9 + 10 + 7 + 5 + 11 = 86.
1 + 8 + 7 + 5 + 1 + 10 + 3 + 13 + 14 + 12 = 74.
7 + 7 + 9 + 5 + 19 + 8 + 16 + 9 + 5 + 7 = 92.
10 + 14 + 3 + 5 + 8 + 5 + 4 + 6 + 7 + 7 = 69.
20 + 7 + 16 + 4 + 5 + 4 + 12 + 6 + 15 + 7 = 96.
2 + 15 + 10 + 7 + 7 + 11 + 8 + 9 + 6 + 7 = 82.
15 + 6 + 13 + 15 + 6 + 8 + 12 + 5 + 10 + 7 = 87.
13 + 8 + 5 + 15 + 1 + 8 + 5 + 11 + 3 + 3 = 72.

De successive Middeltal:

80 : 10 = 8,0.
138 : 20 = 6,9.
224 : 30 = 7,46.
298 : 40 = 7,45.
390 : 50 = 7,80.
459 : 60 = 7,65.
555 : 70 = 7,93.
637 : 80 = 7,96.
724 : 90 = 8,04.
796 : 100 = 7,96.

Forsøg 5. Gjærcelleformering ved 28° efter 1 Døgns Forløb.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

6 + 9 + 13 + 7 + 11 + 14 + 15 + 18 + 12 + 6 = 111.
17 + 16 + 13 + 12 + 5 + 12 + 9 + 10 + 10 + 12 = 116.
8 + 10 + 13 + 6 + 11 + 8 + 3 + 15 + 10 + 7 = 91.
12 + 13 + 12 + 12 + 13 + 9 + 12 + 11 + 17 + 12 = 123.
13 + 14 + 13 + 10 + 8 + 7 + 14 + 14 + 11 + 7 = 111.
6 + 16 + 5 + 14 + 11 + 11 + 10 + 19 + 10 + 14 = 116.
11 + 14 + 8 + 15 + 8 + 11 + 9 + 14 + 9 + 15 = 114.
13 + 8 + 13 + 16 + 3 + 16 + 10 + 5 + 10 + 9 = 103.
8 + 9 + 7 + 10 + 12 + 14 + 5 + 18 + 19 + 11 = 113.
15 + 16 + 11 + 6 + 8 + 4 + 9 + 16 + 13 + 11 = 109.

De successive Middeltal:

111 :	10 =	11,1.
227 :	20 =	11,35.
318 :	30 =	10,60.
441 :	40 =	11,02.
552 :	50 =	11,04.
668 :	60 =	11,13.
782 :	70 =	11,17.
885 :	80 =	11,06.
998 :	90 =	11,09.
1107 :	100 =	11,07.

Forsøg 6. Gjærcelleformering ved 34° efter 1 Døgns Forløb.

Mange Celler vakuoliserede, nogle kornede, ofte Cellekjæder, hyppig pølseformede Celler, dels frie og dels sammenhængende med runde Celler. Mange Bakterier.

Celleantallet i en Rumfangsenhed:

$9 + 2 + 2 + 2 + 1 + 4 + 5 + 6 + 3 + 9 = 43.$
$5 + 3 + 8 + 1 + 3 + 6 + 4 + 2 + 5 + 1 = 38.$
$1 + 4 + 4 + 1 + 1 + 1 + 2 + 7 + 5 + 2 = 28.$
$5 + 5 + 6 + 3 + 1 + 1 + 14 + 9 + 2 + 3 = 49.$
$3 + 3 + 1 + 5 + 4 + 2 + 1 + 3 + 1 + 4 = 27.$
$3 + 2 + 4 + 2 + 7 + 2 + 5 + 1 + 5 + 7 = 38.$
$3 + 2 + 7 + 2 + 4 + 9 + 12 + 7 + 1 + 2 = 49.$
$5 + 6 + 11 + 4 + 5 + 3 + 2 + 2 + 3 + 3 = 44.$
$3 + 1 + 4 + 2 + 3 + 5 + 7 + 2 + 3 + 9 = 39.$
$4 + 5 + 2 + 4 + 2 + 8 + 3 + 6 + 4 + 2 = 40.$

De successive Middeltal:

43 :	10 =	4,3.
81 :	20 =	4,05.
109 :	30 =	3,63.
158 :	40 =	3,95.
185 :	50 =	3,70.
223 :	60 =	3,71.
272 :	70 =	3,89.
316 :	80 =	3,95.
355 :	90 =	3,94.
395 :	100 =	3,95.

Forsøg 7. Gjærcelleformering ved 38° efter 1 Døgns Forløb. Ikke 1 Celle i hvert Felt; ingen Celler har Knopper. Mange Bakterier.

Tredie Forsøgsrække. Gjærcelleformering efter 2 Døgns Forløb.

Forsøg 8. Fortsættelse af Forsøg 1. Tpt. 4°, 1 Kubctm. + 9 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding 1/10.

Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$2 + 4 + 4 + 7 + 1 + 6 + 1 + 1 + 0 + 1 = 27.$$
$$7 + 2 + 5 + 6 + 1 + 1 + 8 + 5 + 1 + 6 = 42.$$
$$1 + 1 + 4 + 7 + 1 + 2 + 6 + 5 + 1 + 2 = 30.$$
$$3 + 5 + 2 + 10 + 3 + 3 + 4 + 2 + 3 + 3 = 38.$$
$$1 + 1 + 1 + 9 + 6 + 3 + 2 + 2 + 4 + 1 = 30.$$

De successive Middeltal:

$$27 : 10 = 2{,}7.$$
$$69 : 20 = 3{,}45.$$
$$99 : 30 = 3{,}30.$$
$$137 : 40 = 3{,}42.$$
$$167 : 50 = 3{,}34.$$

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

33,4.

Forsøg 9. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. 13,5°. 1 Kubctm. Vædske + 1 Kubctm. Natronlud + 8 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding 1/10.

Gjærcellernes Antal i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$9 + 12 + 14 + 13 + 13 + 3 + 15 + 11 + 4 + 3 = 97.$$
$$3 + 15 + 4 + 3 + 4 + 9 + 12 + 7 + 5 + 5 = 67.$$
$$3 + 11 + 5 + 9 + 3 + 9 + 4 + 7 + 7 + 14 = 72.$$
$$6 + 9 + 10 + 8 + 16 + 14 + 9 + 11 + 6 + 8 = 97.$$
$$6 + 10 + 10 + 11 + 10 + 6 + 5 + 6 + 8 + 8 = 80.$$

De successive Middeltal:

$$97 : 10 = 9{,}7.$$
$$164 : 20 = 8{,}2.$$
$$236 : 30 = 7{,}87.$$
$$333 : 40 = 8{,}32.$$
$$413 : 50 = 8{,}26.$$

I den ufortyndede Vædske indeholder Rumfangsenheden altsaa i Gjennemsnit 82,6 Celler.

Forsøg 10. Fortsættelse af Forsøg 3. Tpt. 23°. 1 Kubctm. Vædske + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortyndingen 1/20.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 4 + 6 + 4 + 5 + 6 + 5 + 3 + 6 + 5 = 50.$
$8 + 7 + 6 + 3 + 3 + 9 + 7 + 4 + 6 + 4 = 57.$
$6 + 7 + 6 + 6 + 5 + 4 + 3 + 6 + 3 + 2 = 48.$
$6 + 9 + 3 + 6 + 3 + 6 + 2 + 5 + 1 + 3 = 44.$
$6 + 5 + 3 + 5 + 3 + 6 + 7 + 2 + 5 + 2 = 44.$

De successive Middeltal:

$50 : 10 = 5{,}00.$
$107 : 20 = 5{,}35.$
$155 : 30 = 5{,}16.$
$199 : 40 = 4{,}97.$
$243 : 50 = 4{,}86.$

Altsaa findes der gjennemsnitlig i en Rumfangsenhed af den ufortyndede Vædske:

$20 \times 4{,}86 = 97{,}2$ Celler.

Fjerde Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering efter 8 Døgns Forløb.

Forsøg 11. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. $13{,}5^0$. 1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortynding $^1/_{20}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 6 + 8 + 6 + 6 + 5 + 7 + 9 + 6 + 1 = 60.$
$3 + 5 + 2 + 4 + 6 + 8 + 5 + 2 + 2 + 8 = 45.$
$10 + 2 + 6 + 1 + 9 + 7 + 8 + 6 + 2 + 6 = 57.$
$6 + 10 + 8 + 10 + 9 + 7 + 2 + 2 + 4 + 8 = 66.$
$11 + 3 + 8 + 9 + 10 + 4 + 3 + 6 + 9 + 5 = 68.$
$7 + 13 + 7 + 4 + 5 + 11 + 5 + 6 + 2 + 2 = 62.$
$4 + 10 + 6 + 13 + 2 + 6 + 2 + 4 + 13 + 9 = 69.$
$6 + 1 + 14 + 10 + 8 + 10 + 6 + 4 + 2 + 2 = 63.$
$3 + 13 + 12 + 2 + 7 + 2 + 3 + 10 + 4 + 7 = 63.$
$3 + 4 + 9 + 10 + 5 + 15 + 5 + 9 + 6 + 4 = 70.$

De successive Middeltal:

$60 : 10 = 6{,}0.$
$105 : 20 = 5{,}25.$
$162 : 30 = 5{,}40.$
$228 : 40 = 5{,}70.$
$296 : 50 = 5{,}92.$
$358 : 60 = 5{,}97.$
$427 : 70 = 6{,}10.$
$490 : 80 = 6{,}12.$
$553 : 90 = 6{,}14.$
$623 : 100 = 6{,}23.$

Tredie Forsøgsrække. Gjærcelleformering efter 2 Døgns Forløb.

Forsøg 8. Fortsættelse af Forsøg 1. Tpt. 4°, 1 Kubctm. + 9 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding 1/10.

Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$2 + 4 + 4 + 7 + 1 + 6 + 1 + 1 + 0 + 1 = 27.$$
$$7 + 2 + 5 + 6 + 1 + 1 + 8 + 5 + 1 + 6 = 42.$$
$$1 + 1 + 4 + 7 + 1 + 2 + 6 + 5 + 1 + 2 = 30.$$
$$3 + 5 + 2 + 10 + 3 + 3 + 4 + 2 + 3 + 3 = 38.$$
$$1 + 1 + 1 + 9 + 6 + 3 + 2 + 2 + 4 + 1 = 30.$$

De successive Middeltal:

$$27 : 10 = 2{,}7.$$
$$69 : 20 = 3{,}45.$$
$$99 : 30 = 3{,}30.$$
$$137 : 40 = 3{,}42.$$
$$167 : 50 = 3{,}34.$$

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den ikke fortyndede Vædske er altsaa i Gjennemsnit:

33,4.

Forsøg 9. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. 13,5°. 1 Kubctm. Vædske + 1 Kubctm. Natronlud + 8 Kubctm. Vand = 10 Kubctm. Fortynding 1/10.

Gjærcellernes Antal i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$$9 + 12 + 14 + 13 + 13 + 3 + 15 + 11 + 4 + 3 = 97.$$
$$3 + 15 + 4 + 3 + 4 + 9 + 12 + 7 + 5 + 5 = 67.$$
$$3 + 11 + 5 + 9 + 3 + 9 + 4 + 7 + 7 + 14 = 72.$$
$$6 + 9 + 10 + 8 + 16 + 14 + 9 + 11 + 6 + 8 = 97.$$
$$6 + 10 + 10 + 11 + 10 + 6 + 5 + 6 + 8 + 8 = 80.$$

De successive Middeltal:

$$97 : 10 = 9{,}7.$$
$$164 : 20 = 8{,}2.$$
$$236 : 30 = 7{,}87.$$
$$333 : 40 = 8{,}32.$$
$$413 : 50 = 8{,}26.$$

I den ufortyndede Vædske indeholder Rumfangsenheden altsaa i Gjennemsnit 82,6 Celler.

Forsøg 10. Fortsættelse af Forsøg 3. Tpt. 23°. 1 Kubctm. Vædske + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortyndingen 1/20.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 4 + 6 + 4 + 5 + 6 + 5 + 3 + 6 + 5 = 50.$
$8 + 7 + 6 + 3 + 3 + 9 + 7 + 4 + 6 + 4 = 57.$
$6 + 7 + 6 + 6 + 5 + 4 + 3 + 6 + 3 + 2 = 48.$
$6 + 9 + 3 + 6 + 3 + 6 + 2 + 5 + 1 + 3 = 44.$
$6 + 5 + 3 + 5 + 3 + 6 + 7 + 2 + 5 + 2 = 44.$

De successive Middeltal:

$50 : 10 = 5{,}00.$
$107 : 20 = 5{,}35.$
$155 : 30 = 5{,}16.$
$199 : 40 = 4{,}97.$
$243 : 50 = 4{,}86.$

Altsaa findes der gjennemsnitlig i en Rumfangsenhed af den ufortyndede Vædske:

$20 \times 4{,}86 = 97{,}2$ Celler.

Fjerde Forsøgsrække. Gjærcellernes Formering efter 8 Døgns Forløb.

Forsøg 11. Fortsættelse af Forsøg 2. Tpt. $13{,}5^0$. 1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortynding $^1/_{20}$.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

$6 + 6 + 8 + 6 + 6 + 5 + 7 + 9 + 6 + 1 = 60.$
$3 + 5 + 2 + 4 + 6 + 8 + 5 + 2 + 2 + 8 = 45.$
$10 + 2 + 6 + 1 + 9 + 7 + 8 + 6 + 2 + 6 = 57.$
$6 + 10 + 8 + 10 + 9 + 7 + 2 + 2 + 4 + 8 = 66.$
$11 + 3 + 8 + 9 + 10 + 4 + 3 + 6 + 9 + 5 = 68.$
$7 + 13 + 7 + 4 + 5 + 11 + 5 + 6 + 2 + 2 = 62.$
$4 + 10 + 6 + 13 + 2 + 6 + 2 + 4 + 13 + 9 = 69.$
$6 + 1 + 14 + 10 + 8 + 10 + 6 + 4 + 2 + 2 = 63.$
$3 + 13 + 12 + 2 + 7 + 2 + 3 + 10 + 4 + 7 = 63.$
$3 + 4 + 9 + 10 + 5 + 15 + 5 + 9 + 6 + 4 = 70.$

De successive Middeltal:

$60 : 10 = 6{,}0.$
$105 : 20 = 5{,}25.$
$162 : 30 = 5{,}40.$
$228 : 40 = 5{,}70.$
$296 : 50 = 5{,}92.$
$358 : 60 = 5{,}97.$
$427 : 70 = 6{,}10.$
$490 : 80 = 6{,}12.$
$553 : 90 = 6{,}14.$
$623 : 100 = 6{,}23.$

I en Rumfangsenhed af den ufortyndede **Vædske findes altsaa** i Gjennemsnit:

$$20 \times 6{,}23 = 124{,}6 \text{ Celler.}$$

Forsøg 12. Fortsættelse af Forsøg 3. Tpt. 23°. 1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Fortynding 1/20.

Celleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

5 + 8 + 5 + 3 + 6 + 8 + 4 + 5 + 4 + 5 = 53.
7 + 4 + 9 + 8 + 9 + 10 + 10 + 12 + 6 + 1 = 76.
4 + 6 + 4 + 8 + 7 + 3 + 4 + 7 + 13 + 5 = 61.
8 + 3 + 8 + 3 + 8 + 11 + 4 + 6 + 5 + 5 = 61.
8 + 9 + 1 + 5 + 4 + 8 + 5 + 10 + 4 + 5 = 59.

De successive Middeltal:

53 : 10 = 5,3.
129 : 20 = 6,45.
190 : 30 = 6,33.
251 : 40 = 6,27.
310 : 50 = 6,20.

I den ufortyndede Vædske indeholder **Rumfangsenheden altsaa** i Gjennemsnit:

$$20 \times 6{,}2 = 124 \text{ Celler.}$$

Til II (Om den Indflydelse, Næringsvædskens Koncentration udøver paa Gjærcellernes Formering).

Forsøg 13. Tpt. 4° C. Til 50 Kubctm. Urt, der indeholdt samme Antal Gjærceller som i Forsøg 1 (altsaa 6,4 i en Rumfangsenhed), blev sat 50 Kubctm. destilleret Vand i en aaben Flaske. Næringsvædskens Koncentration var altsaa kun halv saa stor som i Forsøg 1. Gjærcelleantallet blev bestemt efter 1 Døgns Forløb.

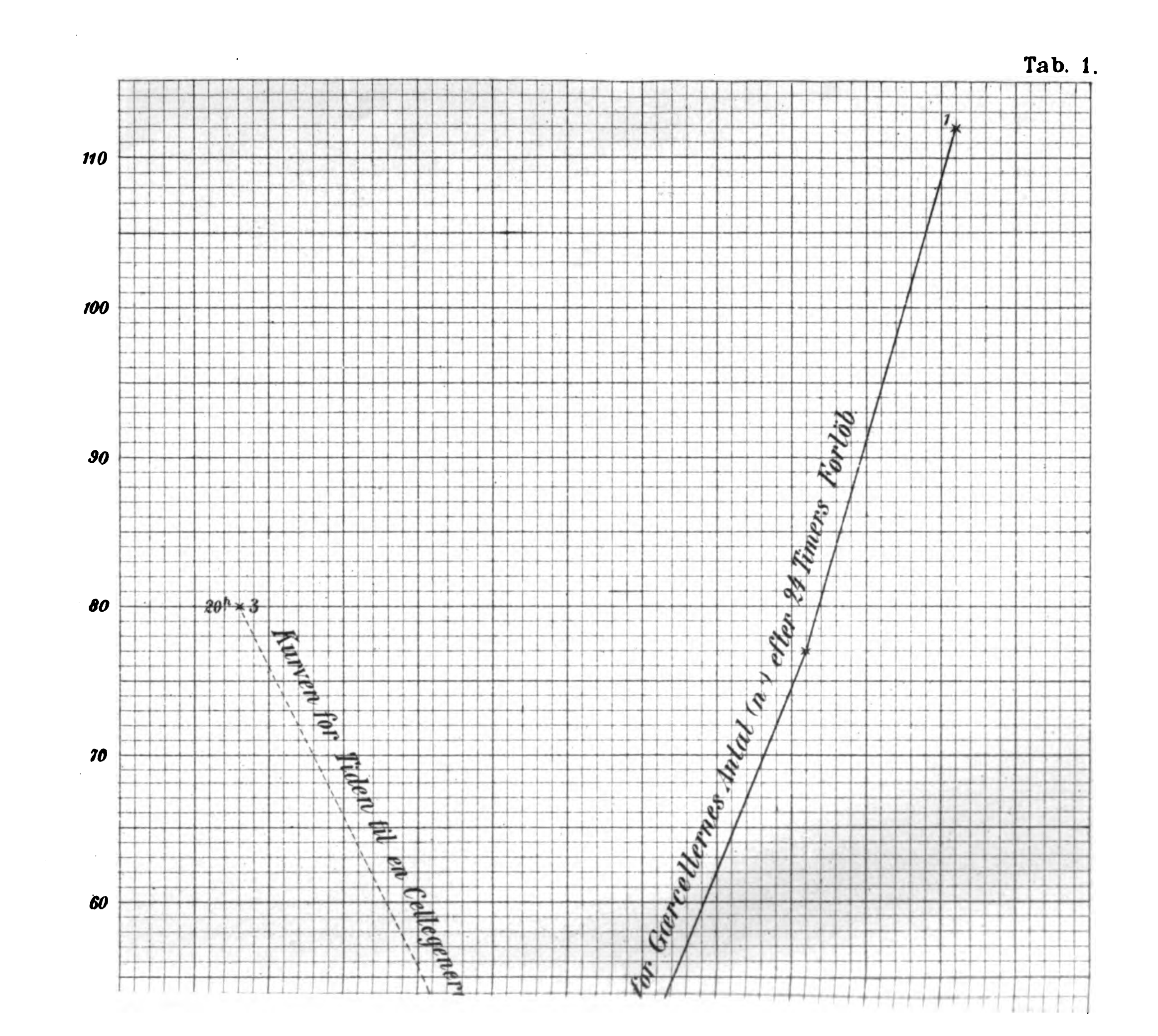
Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed efter 1 Døgns Forløb:

4 + 13 + 4 + 4 + 5 + 8 + 2 + 8 + 7 + 6 = 61.
6 + 7 + 2 + 12 + 2 + 9 + 9 + 7 + 9 + 8 = 71.
8 + 1 + 9 + 10 + 8 + 9 + 0 + 2 + 10 + 6 = 63.
3 + 7 + 5 + 18 + 4 + 6 + 7 + 6 + 5 + 4 = 65.
8 + 6 + 9 + 4 + 4 + 6 + 9 + 9 + 8 + 3 = 67.

De successive Middeltal:

61 : 10 = 6,1.
132 : 20 = 6,6.
195 : 30 = 6,5.
260 : 40 = 6,5.
327 : 50 = 6,54.

Tab. 1.



110
100
90
80
70
60
1
20h 3
Kurven for Tiden til en Cellegenera
for Gærcellernes Antal (n-1) efter 24 Timers Forlöb

Forsøg 14. Tpt. $13{,}5^0$. Gjærcellernes Antal bestemtes efter 8 Døgns Forløb. Forsøget blev anstillet som Forsøg 13, idet der altsaa til 50 Kubctm. Urt med 6,4 Celler i Rumfangsenheden blev sat 50 Kubctm. destilleret Vand. Gjærcelleantallet bestemtes efter 8 Døgns Forløb.

1 Kubctm. + 19 Kubctm. Vand = 20 Kubctm. Vædske. Fortynding $^1/_{20}$.

Gjærcelleantallet i en Rumfangsenhed af den fortyndede Vædske:

2 + 11 + 3 + 2 + 4 + 12 + 0 + 2 + 2 + 4 = 42.
2 + 2 + 1 + 2 + 1 + 1 + 2 + 1 + 2 + 5 = 19.
4 + 3 + 1 + 5 + 7 + 4 + 1 + 2 + 0 + 1 = 28.
1 + 1 + 5 + 4 + 1 + 1 + 5 + 4 + 1 + 1 = 24.
4 + 2 + 4 + 2 + 5 + 3 + 2 + 4 + 2 + 6 = 34.
6 + 3 + 2 + 4 + 2 + 2 + 5 + 2 + 2 + 2 = 30.
6 + 2 + 3 + 4 + 2 + 4 + 9 + 6 + 5 + 3 = 44.
5 + 5 + 6 + 3 + 1 + 1 + 3 + 1 + 1 + 3 = 29.
2 + 5 + 2 + 2 + 1 + 1 + 6 + 3 + 6 + 4 = 32.
5 + 7 + 4 + 2 + 4 + 2 + 2 + 3 + 2 + 2 = 33.

De successive Middeltal:

42 : 10 = 4,2.
61 : 20 = 3,05.
89 : 30 = 2,97.
113 : 40 = 2,82.
147 : 50 = 2,94.
177 : 60 = 2,95.
221 : 70 = 3,16.
250 : 80 = 3,13.
282 : 90 = 3,13.
315 : 100 = 3,15.

Rumfangsenheden i den ufortyndede Vædske indeholder altsaa i Gjennemsnit:

$20 \times 3{,}15 = 63$ Celler.

II.

Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver.

Med Hensyn til den Indflydelse, som Ilten udøver paa Gjærens Udvikling og paa den vinaandige Gjæring er Pasteur[1]) allerede i 1861 kommen til det Resultat, at Tilførsel af Ilt til den gjærende Vædske medfører: 1) en hastigere Gjæring, 2) Dannelsen af en større Mængde Gjær og 3) en Formindskelse af Forholdstallet mellem den forgjærede ɔ: til flygtige Stoffer omdannede Sukkermængde og den dannede Gjærmængde. Medens der, naar Ilten er udelukket fra den gjærende Vædske, kan komme 60—80 Vægtdele forgjæret Sukker paa 1 Vægtdel produceret Gjær, kan man, ved at give Luften lettere Adgang gjennem en stor Overflade, forandre dette Forhold saaledes, at der kommer 4—10 Vægtdele forgjæret Sukker paa 1 Vægtdel produceret Gjær. Paa Grund heraf udtaler Pasteur, at under Lufttilførsel har Gjæren en mindre Gjæringskraft (pouvoir du ferment) end, naar Ilten er holdt borte. Pasteur[2]) har flere Gange senere udtalt sig i samme Retning og har hovedsagelig paa disse Resultater baseret en Gjæringstheori. Ligeledes har han benyttet Iltens Indflydelse paa Gjæringen til Forklaring af en i mange Tider i Lothringen anvendt Behandling af Vin-Most, ved hvilken Mosten førend Gjæringen i længere Tid bliver stærkt rørt om, og ved hvilken Behandling man opnaar, at Vinen hurtigere bliver færdig eller moden og mere holdbar end ved den almindelige Behandling, ved hvilken Mosten ikke saaledes bliver imprægneret med Luft.

Uden at kjende noget til de Pasteurske Undersøgelser, er en Civilingenieur i New-York, R. d'Heureuse, ved at lægge Mærke til den Gjæringen begunstigende Indflydelse, som Indæltning af Luft i Brød-Deigen har, i 1866 kommen paa den Tanke, at Tilledning af atmosfærisk Luft til gjæringsdygtige Vædsker under Gjæringen maatte have en gavnlig Virkning. Ved Forsøg med kaliforniske

---

[1]) Pasteur: Bulletin de la société chim. 1861. Influence de l'oxygène sur le développement de la levúre et sur la fermentation alcoolique. (Aftrykt i Études sur la bière 1876, p. 255), Comptes rendus de l'Académie. 1861. Tom. 52, p. 1260: Expériences et vues nouvelles sur la nature des fermentations.

[2]) Pasteur: Comptes rendus. 1863. Tom. 57, p. 936. De l'influence de l'oxygène de l'air dans la vinification. Études sur le vin. 2 édit. 1873, p. 277.

Vine, ved hvis Tilberedning der under hele Gjæringsforløbet blev ledet atmosfærisk Luft gjennem den gjærende Most, kom man til et meget gunstigt Resultat. Gjæringen blev meget paaskyndet, og Vinen klarede sig hurtigere. Vin, der ellers maatte henligge i to Aar, inden den kunde bringes i Handelen, blev i kort Tid færdig. Der indtraadte ingen Eftergjæring, og Vinen havde en modnere og renere Smag og var mere holdbar, hvilket man forklarede derved, at Æggehvidestofferne vare fuldstændigere udskilte. I 1868 søgte R. d'Heureuse og fik indtil 1884 Patent paa denne Behandlingsmaade af gjærende Vædsker i Amerika, Frankrig og England.

I Tydskland er i den sidste halve Snes Aar dels af Vinproducenterne og dels i Laboratorierne for Gjæringskemi mange Undersøgelser blevne anstillede over Luftningens Indflydelse paa Gjæringen, navnlig paa Vin-Mostens Gjæring. Impulsen til disse Undersøgelser skyldes Blankenhorn i Karlsruhe, som i de af ham fra 1869 af udgivne Annalen der Oenologie ivrigen har virket for Luftningsspørgsmaalet og derved skaffet Luftningen stor Udbredelse i Vinproduktionen. I det nævnte Tidsskrift findes næsten alle de tydske Publikationer over dette Spørgsmaal. Næsten alle de Forsøg, man i Tydskland har anstillet over Lufttilførselens Indflydelse paa Gjæringen, ere udførte med Vin-Most. Ved en Del af Forsøgene har man ved Hjælp af et særegent Piskeapparat (v. Babo's[1]) Mostpeitsche) pisket Luft ind i Mosten førend Gjæringen, men derimod ikke under den. Ved en anden Del af Forsøgene har man under Gjæringen ved Hjælp af et Kompressionsapparat (Blankenhorns[2]) Luftningsapparat) ledet Luft ind i og igjennem den gjærende Vædske, altsaa anvendt Luftningen saaledes som foreslaaet af d'Heureuse. Da Annalen der Oenologie ikke synes at være meget udbredte, og da man paa adskillige Steder, hvor man kunde vente at finde Luftningsforsøgene fremstillede f. Ex. i Wagners Jahresbericht der chemischen Technologie, forgjæves søger derefter, saa turde en Oversigt over de vigtigste Luftningsforsøg næppe være overflødig.

Blankenhorn[3]) har udført sine Luftningsforsøg med Vin-Most i Tønder. Ved Hjælp af et Gasur blev Kulsyremængden bestemt og derved Gjæringens Gang fulgt. — Ved Analyse af de færdige Vine fandtes følgende.

---

1) Annalen der Oenologie, I, p. 16.
2) Annalen der Oenologie, II, p. 497.
3) Blankenhorn: Annalen d. Oenologie, I, p. 21, 215, 408, II, p. 157, 432.

1867. Luftning før, men ikke under Gjæringen.

		Alkohol. Vol. %.	Sukker.	Extrakt i 100 Cc.	Syre i 100 Cc.
Forsøg 1.	Luftning før Gjæringen ..	—	0,059 %	—	0,77 %
	Ikke-Luftning	—	0,069 -	—	1,07 -
Forsøg 2.	Luftning før Gjæringen ..	10,6	1,88 -	—	0,66 -
	Ikke-Luftning	8,7	1,66 -	—	0,67 -
Forsøg 3.	Luftning før Gjæringen ..	13,5	0,20 -	—	0,72 -
	Ikke-Luftning	11,25	2,38 -	—	0,71 -

1870. Luftning under Gjæringen.

		Alkohol. Vol. %.	Sukker.	Extrakt i 100 Cc.	Syre i 100 Cc.
Forsøg 4.	Luftning under Gjæringen	14,3	0,33 %	2,326	0,44 %
	Luftning før Gjæringen ..	13,85	0,18 -	2,083	0,55 -
Forsøg 5.	Luftning under Gjæringen	11,6	1,04 -	2,825	0,57 -
	Luftning før Gjæringen ..	10,18	4,75 -	3,899	0,61 -
Forsøg 6.	Luftning under Gjæringen	14,6	0,45 -	2,85	0,65 -
	Luftning før Gjæringen ..	13,7	1,28 -	2,72	0,68 -

Haas og Moritz[1]). 1871.

Forsøg med 1800 Kubctm. Vin-Most. Gjæringens Gang blev bestemt ved daglig Undersøgelse af Vægtfylde, Alkohol, Sukker, Extrakt og Syre.

Ved Undersøgelse af den færdige Vin fandtes følgende:

	Alkohol. Vol.%	Sukker. %	Extrakt. %	Syre. %	Kvælstof. %	Hovedgjæringens Varighed.
Luftning under Gjæringen, to Gange daglig	7,16	0,07	2,79	1,06	0,019	9 Dage
Luftning før Gjæringen	6,64	0,09	2,82	0,99	0,034	18 -

Paa den Tid, da Hovedgjæringen af den under Gjæringen luftede Vin var til Ende, fandtes ved Analysen følgende Sammensætning:

	Alkohol. Vol. %	Sukker. %	Extrakt. %	Syre. %
Luftning under Gjæringen	7,13	0,08	2,68	1,04
Luftning før Gjæringen	5,87	1,81	4,37	1,02

[1]) Haas u. Moritz: Annalen der Oenologie, II, p. 455.

Mayer[1]). 1873.

Forsøg med 150 Kubctm. Sukkeropløsning med tilsatte Næringsstoffer og Spor af Gjær.

	Alkohol.	Gjær.	Gjærings-varighed.
	Grm.	Grm.	
Luftning under Gjæringen, 3 Gange daglig..	8,97	0,166	22 Dage
Ikke-Luftning	8,97	0,124	46 -

Molnàr[2]). 1872.

Forsøg 1 og 2 udførtes med 100 Kubctm. og Forsøg 3 med 500 Kubctm. Most, der først blev ophedet til 60°.

I Forsøg 3 blev daglig gjort Kulsyrebestemmelse.

Analysen af den færdige Vin gav følgende Resultat:

		Alkohol. Vægt %	Sukker. %	Extrakt i 100 Cc.	Syre. ‰	Kvælstof i 100 Cc.
				Grm.		
Forsøg 1.	Luftning under Gjæringen	6,69	0,17	3,02	9,5	—
	Luftning før Gjæringen ..	6,68	0,22	3,09	9,5	—
	Ikke-Luftning..........	6,43	0,29	3,26	9,5	—
Forsøg 2.	Luftning under Gjæringen	9,55	0,19	3,05	9,2	0,0257
	Luftning før Gjæringen ..	9,55	0,23	3,09	9,3	0,0280
	Ikke-Luftning...........	9,12	0,28	3,31	9,8	0,0392
Forsøg 3.	Luftning under Gjæringen	8,63	0,23	2,03	13,05	0,0481
	Luftning før Gjæringen ..	8,46	0,26	2,12	13,00	0,0489
	Ikke-Luftning...........	7,97	0,37	2,42	13,20	0,0649

Moritz[3]). 1874.

Forsøg med 300 Kubctm. Most, hvortil blev sat Spor af frisk Ølgjær. Efter 5 Dage blev Forsøget afbrudt, og der fandtes da følgende:

	Alkohol. Vol. %	Gjær.
		Grm.
Luftning under Gjæringen...	3,3	0,759
Ikke-Luftning..............	1,8	0,696

1) Mayer: Landwirthschaftl. Versuchsstationen, XVI, p. 290.
2) Molnàr: Annalen der Oenologie, III, p. 245.
3) Moritz: Bericht der deutsch. chem. Gesellschaft, 1874, p. 156.

Neubauer.

Forsøg med 2500 Kubctm. Most. Daglig Undersøgelse af Alkohol, Sukker, Extrakt og Syre.

1871[1]. Ved Analyse af den færdige Vin fandtes følgende:

		Alkohol. Vgt.%	Sukker. %	Extrakt. %	Syre. %	Kvælstof. %	Gjær, tørret ved 100°. Grm.	Gjærings-varighed.
Forsøg 1.	Luftning under Gjæringen, daglig 1 Gang...	8,344	—	1,989	0,778	0,0315	11,75	12 Dage.
	Luftning før Gjæringen.	8,184	—	2,168	0,795	0,0476	8,84	18 -

Paa den Tid, da Hovedgjæringen af den under Gjæringen luftede Most var til Ende, fandt man:

Luftning under Gjæringen	8,50	—	2,0	0,84			
Luftning før Gjæringen..	6,14	—	5,75	0,82			

Ved Analyse af den færdige Vin fandtes:

Forsøg 2.	Luftning under Gjæringen	12,62	—	1,50	0,570	—	6,39	—
	Luftning før Gjæringen..	12,00	—	2,25	0,529	—	4,07	—

Paa den Tid, da den under Gjæringen luftede Mosts Hovedgjæring var endt, fandtes:

Luftning under Gjæringen	12,40	—	1,50	0,58			
Luftning før Gjæringen..	10,81	—	3,95	0,54			

1872[2]. Ved Undersøgelse af den færdige Vin fandtes:

Forsøg 3.	Luftning under Gjæringen..................	9,747	—	2,536	0,813	0,0280	13,36	15 Dage.
	Luftning før Gjæringen.	9,53	—	2,712	0,882	0,0466	5,902	30 -

Paa den Tid, da Hovedgjæringen af den under Gjæringen luftede Most var til Ende, fandtes:

Luftning under Gjæringen................	9,686	0,50	2,832	0,93			
Luftning før Gjæringen..	6,217	6,99	10,288	0,91			

[1]) Neubauer: Annalen der Oenologie, III, p. 138.
[2]) Neubauer: Annalen der Oenologie, IV, p. 62.

1873[1]). Ved Analyse af den færdige Vin fandtes:

		Alkohol. Vgt.%	Sukker. %	Extrakt. %	Syre. %	Kvælstof. %	Gjær, tørret ved 100° Grm.	Gjærings-varighed.
Forsøg 4.	Luftning under Gjæringen, daglig 1 Gang..	8,647	0,181	3,35	0,818	0,0409	10,927	8 Dage.
	Luftning før Gjæringen.	8,576	0,255	3,32	0,882	0,0532	6,00	18 -

Af de hidtil gjorte Luftningsforsøg fremgaar paa det bestemteste — i Overensstemmelse med Pasteurs Udtalelser —, at Luftning under Gjæringen paaskynder Gjæringens Hastighed. Fremdeles fremgaar det af Forsøgene, at der er Forskjel paa den færdige Vins Sammensætning, efter som der luftes under Gjæringen, eller ikke.

Ved Luftningen under Gjæringen var den færdige Vins Alkoholmængde i 13 Forsøg større, i 1 Forsøg (Mayer 1873) lige stor med og i 1 Forsøg (Haas und Moritz) mindre end Alkoholmængden i den Vin, der ikke blev luftet under Gjæringen.

Sukkermængden var i 9 Forsøg mindre i den under Gjæringen luftede Vin end i den, hvor der ikke blev luftet under Gjæringen; kun i 2 af Forsøgene (Blankenhorns Forsøg 2 og 4) var den større.

Extraktmængden var i 8 Forsøg mindre, naar der blev luftet under Gjæringen, og kun i 3 Forsøg større (Blankenhorns Forsøg 4 og 6 samt Neubauers Forsøg 4).

Syremængden var i 10 Forsøg mindre, naar der blev luftet under Gjæringen, og større i kun 3 Forsøg (Blankenhorns Forsøg 3, Haas und Moritzs Forsøg, Neubauers Forsøg 2). I 1 Forsøg (Molnàrs Forsøg 1) var Luftningen uden Indflydelse paa Syremængden, der var den samme, hvad enten der blev luftet under Gjæringen, eller ikke.

Vinens Kvælstofmængde var i alle de 7 Forsøg, hvor den blev bestemt, mindst, naar der blev luftet under Gjæringen.

Altsaa: Naar der luftes under Gjæringen, vil Vinen indeholde en større Mængde Alkohol, men en mindre Mængde Sukker, Extrakt, Syre og Kvælstof.

Hvad den dannede Gjærmængde angaar, var den i de 6 Forsøg, hvor den blev bestemt, størst, naar der blev luftet under

[1]) Neubauer: Annalen der Oenologie, IV, p. 492.

Gjæringen. Stemmende hermed er den mindre Kvælstofholdighed hos de luftede Vine. Overensstemmende med Pasteurs Udtalelser avles der altsaa en større Mængde Gjær, naar der luftes under Gjæringen, end naar der ikke luftes.

Hovedresultatet af Luftningsforsøgene kan altsaa udtrykkes saaledes:

Naar der luftes under Gjæringen, bliver Gjæringen hurtigere og fuldstændigere, og der avles en større Mængde Gjær.

Af dette Forsøgsresultat vil man let kunne forklare sig den Erfaring, som Vinproducenterne have gjort, at, naar der luftes under Gjæringen, har Vinen ingen eller kun en ringe Eftergjæring og en større Holdbarhed.

Pasteur havde angivet, at Gjærens Gjæringskraft, hvilken han bestemte ved Forholdet mellem den forgjærede Sukkermængde og den producerede Gjærmængde, forandres og bliver mindre ved Tilførsel af atmosfærisk Luft under Gjæringen. Da dette Punkt er af fundamental Betydning i theoretisk Henseende, ville vi undersøge, hvorvidt de foreliggende Luftningsforsøg kunne give nogen Oplysning herom.

Desværre er Gjærmængden kun i faa af Forsøgene bestemt. Den forgjærede Sukkermængde er i Reglen heller ikke angiven, men dette kan for saa vidt være ligegyldigt, da Sukkerets Omsætning lige saa godt kan udtrykkes ved den dannede Alkoholmængde, og Gjæringskraften bestemmes ved Forholdet mellem den producerede Alkoholmængde og Gjærmængde.

Forholdet $\left(\frac{a}{g}\right)$ mellem Alkoholmængden (a) og Gjærmængden (g) findes i de foreliggende Luftningsforsøg at være følgende:

$$\text{Mayer}\begin{cases}\text{Luftning} & \frac{8{,}97}{0{,}166} = 5{,}4 \quad 100.\\ \text{Ikke-Luftning} & \frac{8{,}97}{0{,}124} = 7{,}2 \quad 133.\end{cases}$$

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 133.

$$\text{Moritz}\begin{cases}\text{Luftning} & \frac{3{,}3}{0{,}759} = 4{,}3 \quad 100.\\ \text{Ikke-Luftning} & \frac{1{,}8}{0{,}696} = 2{,}7 \quad 63.\end{cases}$$

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 63.

Neubauer Forsøg 1.	Luftning	$\frac{8,34}{11,75}$	$= 0,71$	100.
	Ikke-Luftning	$\frac{8,184}{8,34}$	$= 0,98$	138.

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 138.

Neubauer Forsøg 2.	Luftning	$\frac{12,62}{6,39}$	$= 2$	100.
	Ikke-Luftning	$\frac{12,0}{4,07}$	$= 3$	150.

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 150.

Neubauer Forsøg 3.	Luftning	$\frac{9,747}{13,36}$	$= 0,7$	100.
	Ikke-Luftning	$\frac{9,53}{5,902}$	$= 1,6$	228.

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 228.

Neubauer Forsøg 4.	Luftning	$\frac{8,647}{10,927}$	$= 0,79$	100.
	Ikke-Luftning	$\frac{8,576}{6,00}$	$= 1,4$	177.

Gjæringskraften ved Luftning og ved Ikke-Luftning forholder sig altsaa som 100 til 177.

I det Hele taget var i 5 Forsøg Gjæringskraften mindst i de Tilfælde, hvor der blev luftet under Gjæringen, og kun i 1 Forsøg (Moritz) var det modsatte Tilfældet.

Altsaa: Naar der luftes under Gjæringen, er Forholdstallet mellem den frembragte Alkoholmængde og den avlede Gjærmængde mindre, og Gjæren altsaa mindre virksom, end Tilfældet er, naar der ikke bliver luftet under Gjæringen.

Dette stemmer med Pasteurs Udtalelse, og vi kunne saaledes ikke give Mayer[1]) Medhold i hans Paastand, at Luftningen ikke har nogen væsentlig Indflydelse paa Forholdet mellem den producerede Alkoholmængde og Gjærmængde. Dette Forhold er ikke, saaledes som Mayer vil gjøre gjældende, et konstant Forhold, men et variabelt Forhold, der i de anførte Forsøg ligger mellem Grænserne 0,7 og 7,2, hvilket sidste Tal er mere end 10 Gange større end det første.

---

[1]) Mayer: Lehrbuch d. Gährungschemie, 1874 p. 138.

For at opnaa nogen større Klarhed med Hensyn til de her afhandlede Spørgsmaal og for at se, hvorledes Sagen stiller sig, naar Luftningsforsøgene anstilles med Øl-Urt og Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ, ere de følgende Forsøg blevne udførte i Følge Hr. Kaptajn Jacobsens Ønske og ved hans Medvirkning.

Luftningen i de af os anstillede Forsøg blev udført ved Hjælp af et Luft-Kompressionsapparat, der bestaar af en med et Manometer forsynet Jerncylinder, som tjener til Luftbeholder, og i hvilken Luften trykkes ind ved en Luftpompe. Naar vi nu vilde lede Luft ind i en gjærende Vædske, saa anbragte vi et vinkelbøjet Messingrør i det Glas, hvori Vædsken befandt sig, saaledes at Rørets kortere, ved en Prop lukkede, men med fine Sideaabninger forsynede Stykke hvilede horizontalt paa Glassets Bund, medens Rørets øverste Ende blev sat i Forbindelse med Luftbeholderen. Den komprimerede Luft i denne trængte da gjennem de fine Aabninger ind i og op igjennem Vædsken. Da Luftbeholderen var sat i Forbindelse med en Vandledning, hvori Vandet stod med et temmelig betydeligt Tryk, saa kunde man ved at lade Vand strømme ind i Beholderen bestandig holde Luften i denne i en stærk Spænding, uagtet der ved Luftningen bestandig strømmede Luft ud. Paa denne Maade var det os muligt at lufte uafbrudt under hele Gjæringsforløbet.

Første Forsøgsrække (6.—18. Marts).

Luftningsforsøg i det mørke Værelse ved Hjælp af Luft-Kompressionsapparatet i en Temperatur af 6—7° R.

I Forsøg 1 blev $1^1/_2$ Liter klar Urt i 2 Timer ophedet til 85—90° C. og samtidig luftet; derpaa blev filtreret ved Sugning og Vand blev tilsat, til den oprindelige Vægtfylde var tilvejebragt nemlig 13% Kaiser. Til den klare, meget mørke, filtrerede Vædske blev sat 5 Grm. flydende Gjær. Under hele Gjæringsforløbet blev der luftet med ikke filtreret atmosfærisk Luft.

I Forsøg 2 blev en lige saa stor Mængde af den samme Urt bragt i Gjæring med en lige saa stor Gjærmængde. Førend Gjærsætningen fandt ingen Ophedning eller Luftning Sted; men der blev ogsaa her luftet under Gjæringen.

I Forsøg 3 blev $1^1/_2$ Liter Urt behandlet som i Forsøg 1, men der blev ikke luftet under Gjæringen, og Cylinderglasset, hvori Gjæringen foregik, blev dækket med et Glaslaag.

I Forsøg 1 og 3, i hvilke altsaa Urten blev ophedet og luftet før Gjæringen, var den gjærende Vædske aldeles uklar og uigjennemsigtig saa vel under som efter Gjæringen. Den mikroskopiske

Undersøgelse viste, at Uklarheden ikke hidrørte fra Organismer (Bakterier), men fra fine amorfe Fnug, der let opløstes af Natron og Ammoniak, men ikke af Eddikesyre, og saaledes formodentlig maa betragtes som udskilte Æggehvidefnug.

Vædskens Vægtfylde, der oprindelig var 13 % Kaiser, var ved Forsøgenes Slutning:

4 % i Forsøg 1,
$4^1/_2$ - - — 2,
$5^1/_8$ - - — 3.

I de 12 Døgn, Forsøget varede, blev Gangen i Gjæringen daglig (undtagen i de første Dage) forfulgt med Saccharometret.

Gjæren blev ved Forsøgets Slutning mikroskopisk undersøgt, og ved Slemning dannede vi os et Skjøn om dens Vægtfylde. Den var i Forsøg 1 og 2 tung og granuleret, ligesom i andre Luftningsforsøg; i Forsøg 3 var den som almindelig Gjær, men uden Vakuoler. — I Forsøg 1 og 2 fandtes mange lange Celleformer (Saccharomyces pastorianus?) og næsten ingen Bakterier, som derimod fandtes i Forsøg 3 (smaa Kuglebakterier).

Gjærmængden blev bestemt ved Vejning og Tørring i Bægerglas. Vægten af den tørre Gjær var:

8,29 Gram i Forsøg 1,
8,28 — - — 2,
5,58 — - — 3.

Altsaa:

Ved Luftning under Gjæringen dannedes der lige meget Gjær, hvad enten Urten før Gjæringen har været luftet ved 85—90° C. eller ikke. Gjærmængden er nemlig lige stor i Forsøg 1 og Forsøg 2. Ved Luftning under Gjæringen dannedes en større Mængde Gjær, end naar den samme Urt ikke var luftet under Gjæringen. Gjærmængden i Forsøg 1 og 2 er nemlig større end i Forsøg 3.

Anden Forsøgsrække (21. Marts til 2. April).

Luftningsforsøg i det mørke Værelse ved Hjælp af Luftkompressionsapparatet i en Temperatur af c. 6—8° C.

De 8 til denne Række hørende Forsøg bleve anstillede paa den Maade, at der kom 1 Liter Urt i hvert af 16 lige store, rummelige Cylinderglas. Til hvert Glas blev fra det Pasteurske Apparat sat den samme Mængde Gjær, svarende til 0,84 Gram tør Gjær. Under Gjæringen blev der luftet i de otte Glas, men i de otte andre Glas blev der ikke luftet. Gjæringen blev afbrudt til forskjellig Tid, men saaledes, at den i et Glas, der blev luftet, og i et Glas, der ikke blev luftet (hvilke Glas høre sammen til et

Forsøg), blev afbrudt samtidig. Gjæren filtreredes fra den gjærende Vædske ved Sugning. Filtratets Vægtfylde blev bestemt ved Saccharometret (Balling), Mængden af Tørstof (Extrakt) i Filtratet blev bestemt direkte efter Mohrs Methode, derved at 5 Kubctm. bragtes i et lille Bægerglas med tørt, rent Sand, og derefter indtørredes og vejedes. Mængden af den frafiltrerede Gjær blev bestemt ved Indtørring paa Filtret og Vejning.

Vægtfylden af den anvendte Urt var 13 % Balling, og i 5 Kubctm. af den fandtes 0,652 Gram Tørstof.

Resultatet af Forsøgene er fremstillet i følgende Oversigt.

Forsøg.	Vægtfylde (Balling).		Tørstof i 5 Kubctm.		Tør Gjær (inkl. den tilsatte = 0,84).		Forsøgets Varighed.
	Luftning.	Ikke Luftning.	Luftning.	Ikke Luftning.	Luftning.	Ikke Luftning.	
	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	
1	12,8	12,4	0,638	0,639	1,39	1,58	21—23 Marts, 2 Døgn.
2	11,8	11,8	0,617	0,625	2,86	1,75	21—24 — 3 —
3	9,5	10,8	0,518	0,535	4.00	2.94	21—26 — 5 —
4	8,7	9,1	0,480	0,493	3,91	3,18	21—27 — 6 —
5	7,8	8,1	0,441	0,451	3,99	3,26	21—28 — 7 —
6	6,8	7,7	0,381	0,446	4.95	2,63	21—29 — 8 —
7	5,6	6,4	0,352	0,389	4,94	2,98	21—31 — 10 —
8	4,6	5,5	0,307	0,348	5,69	3,30	21 Marts til 2 April, 12 Døgn.

Det under Gjæringen forbrugte Tørstof anvendes dels til Frembringelse af Gjær og dels til Forgjæring, ɔ: omdannes til flygtige Stoffer. For at se, hvorledes det forholder sig med Tørstoffets Anvendelse ved Luftning og Ikke-Luftning, har jeg beregnet Tørstofmængden i den hele Vædskemængde, altsaa i 1 Liter. Resultatet kan ses af følgende Oversigt:

	Nedgang i Vægtf. (Balling).			Forbrugt Tørstof i 1 Liter.			Produceret Gjær.			Forgjæret Tørstof i 1 Liter.		
	Luftn. A.	Ikke Luftn. B.	Forskjel. A-B.	Luftn. A.	Ikke Luftn. B.	Forskjel. A-B	Luftn. A.	Ikke Luftn. B.	Forskjel. A-B.	Luftn. A.	Ikke Luftn. B.	Forskjel. A-B.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
I 2 Døgn (Forsøg 1)	0,7	0,6	0,1	2,8	2,6	0,2	0,55	0,74	÷1,9	2,25	1,86	0,39
i 3 - (- 2)	1,7	1,7	0,0	7,0	5,4	1,6	2,02	0,91	1,11	4,98	4,49	0,49
i 5 - (- 3)	3,5	2,7	0,8	27,8	23,4	4,4	3,16	2,10	1,06	24,64	21,30	3,34
i 6 - (- 4)	4,3	3,9	0,4	34,4	31,8	2,6	3,07	2,29	0,78	31,33	29,51	1,82
i 7 - (- 5)	5,2	4,9	0,3	42,2	40,2	2,0	3,15	2,42	0,73	39,05	37,78	1,27
i 8 - (- 6)	6,7	5,3	1,4	54,2	41,2	13,0	4,11	1,79	2,32	50,09	39,41	10,68
i 10 - (- 7)	7,4	6,6	0,8	60,0	52,6	7,4	4,10	2,14	1,96	55,90	50,46	4,44
i 12 - (- 8)	8,4	7,5	0,9	69,0	60,8	8,2	4,85	2,46	2,39	64,15	58,34	5,81

For en lettere Oversigts Skyld ere Forsøgsresultaterne fremstillede grafisk paa Tavle 2 A–D. De kunne udtrykkes i følgende Sætning:

Naar Urten luftes under Gjæringen, saa vil i samme Tid Nedgangen i Vægtfylde, Forbruget af Tørstof, Forøgelsen af Gjærvægten og Mængden af forgjæret Tørstof være større, end naar der ikke luftes under Gjæringen.

Kun i Forsøg 1 var Gjærmængden ved Luftning mindre end ved Ikke-Luftning. Grunden hertil maa rimeligvis søges deri, at Gjæren formedelst den Langsomhed, hvormed Filtrationen ved det ikke-luftede Øl foregaar i Gjæringens Begyndelse, har formeret sig paa Filtret, saaledes at man ved Ikke-Luftning har fundet Gjærmængden større end den var paa det Tidspunkt, da Forsøget blev afbrudt, og den gjærende Vædske kom paa Filtret. Under alle Omstændigheder kan dette ene Forsøg ikke have nogen Betydning overfor alle de andre, der jo alle gaa i samme Retning, hvilket bedst kan ses af den grafiske Fremstilling (Tavle 2 A–D).

Tredje Forsøgsrække (23—27 Maj).

Luftningsforsøg i det mørke Værelse ved c. 12—15° C.

Forsøgene i denne Række bleve udførte væsentlig paa samme Maade som i den anden Række. I hvert Forsøg var der et Cylinderglas (A), hvis Indhold blev luftet under Gjæringen, og to andre Cylinderglas, hvis Indhold ikke blev luftet, og det ene af disse (B) stod aabent, men det andet (C) var dækket af en Glasplade. For at forhindre Gjærcellerne i at sænke sig, blev der hver Time om Dagen rørt stærkt om med en lang Glasstang i de Glas, hvis Indhold blev luftet. Gjæren blev ikke filtreret fra Vædsken ved Hjælp af Sugning som i den forrige Række, men Filtrationen blev foretagen i Isskabet ved 4—5° C, hvorved man havde til Hensigt, saa vidt muligt at hæmme Gjærcellernes Formering paa Filtret under Filtrationen. Til Bestemmelse af Vædskens Tørstof (Extrakt) blev anvendt ikke 5 Kubctm., som i den forrige Række, men 10 Kubctm., hvorved den Faktor, hvormed der maa multipliceres ved Udregningen af Tørstoffet i 1 Liter, kun blev halv saa stor som i forrige Række, og følgelig den mulige Fejl mindre.

Den til Forsøgene anvendte Urt havde en Vægtfylde af 13,2 % (Balling), og 10 Kubctm. indeholdt 1,435 Gram Tørstof. Til hver Liter Urt blev sat almindelig Undergjær, hvis Tørvægt var 0,65 Gram.

Forsøgsresultatet ses af følgende Oversigt:

	Vægtfylde (Balling).			Tørstof i 10 Kubctm.			Tør Gjær (inkl. den tilsatte).		
	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
Forsøg 9, 23—25 Maj.	7.46	7,77	7,90	0,881	0.935	0.939	4,369	3.810	3,669
Forsøg 10, 23—26 Maj.	5,16	5.46	5,85	0,779	0.822	0,847	5,089	4,740	3,714
Forsøg 11, 23—27 Maj.	3,66	4,94	5.14	0.627	0.776	0.784	5.776	4,877	4,330

Hvis man forudsætter, at det forbrugte Tørstof er anvendt dels til Gjærproduktion og dels til Forgjæring, giver den følgende Tabel en Fremstilling af Tørstoffets Anvendelse. Nedgangen i Vægtfylde er ogsaa angiven.

	Nedgang i Vægtf. (Balling).			Forbrugt Tørstof i 1 Liter.			Produceret Gjær i 1 Liter.			Forgjæret Tørstof i 1 Liter.		
	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	Glas. dækket C.	luftet Glas. A.	aabent Glas B.	dækket Glas. C.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
12 Døgn (Forsøg 9)	5,75	5,43	5,30	55,4	50,0	49,6	3,719	3,160	3,019	51,681	46,840	46,581
13 - (- 10)	8,04	7,74	7,35	65,6	61,3	58,8	4,439	4,090	3,064	61,161	57,210	55,736
14 - (- 11)	9,54	8,26	8,06	80,8	65,9	65,1	5,126	4,227	3,680	75,674	61,673	61,420

Forsøgsresultaterne ere fremstillede grafisk paa Tavle 2 G-K. De kunne udtrykkes i følgende Sætninger, af hvilke den første er ganske den samme, som blev udledet af den foregaaende Forsøgsrække:

Naar Urten luftes under Gjæringen, vil i samme Tid Nedgangen i Vægtfylde, Forbruget af Tørstof, Gjærmængdens Forøgelse og Mængden af forgjæret Tørstof være større, end naar der ikke luftes under Gjæringen.

Naar Urten ikke luftes under Gjæringen, men Gjæringsglasset dækkes af en Glasplade, hvorved den atmosfæriske Luft tildels holdes borte fra Vædskens Overflade, saa vil i samme Tid Nedgangen i Vægtfylde, Forbruget af Tørstof, Vægten af den producerede Gjær og Mængden af forgjæret Tørstof være mindre, end naar Gjæringsglasset staar aabent under Gjæringen.

Spørge vi nu, hvilken Indflydelse har Luftningen paa Gjærens Fermentvirkning, møde vi den Vanskelighed, at Næringsvædskens Sammensætning forandres, og at Gjærmængden under Gjæringsforløbet forandrer sig, saa at Gjæringsarbejdet hverken er udført af den Gjærmængde, der findes ved Forsøgets Begyndelse,

eller af den Gjærmængde, der findes ved Forsøgets Slutning, men af en Middelgjærmængde, hvis Størrelse man ikke kjender og heller ikke kan beregne nøjagtig, da vi ikke kjende den Lov, hvorefter Gjærmængden voxer under Forløbet af en Gjæring. Men hvis man tør antage, at Gjærmængden er jævnt voxende med Tiden, saa vil den nævnte Middelgjærmængde udtrykkes ved Middeltallet for Gjærmængden ved Forsøgets Begyndelse og ved dets Slutning. Som Maal for Gjærens Fermentvirkning (Gjærvirksomhed) kan man anvende Forholdet $\left(\frac{t}{g}\right)$ mellem Mængden af ved Gjæringen omdannet Tørstof (t) og Middelgjærmængden (g) eller den Mængde Tørstof, der er forgjæret af 1 Gram Gjær. Hvad Forsøgene vise med Hensyn til Luftningens Indflydelse paa Gjærvirksomheden, kan ses af følgende Oversigt:

Anden Forsøgsrække.

	Middelgjærmængden g.		Forgjæret Tørstof i 1 Liter t.		Gjærvirksomhed $\frac{t}{g}$.		B ÷ A.
	Luftning. A.	Ikke Luftning. B.	Luftning. A.	Ikke Luftning. B.	Luftning. A.	Ikke Luftning. B.	
	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.			
I 2 Døgn, Fors. 1	1,11	1,21	2,25	1,86	2,0	1,5	÷0,5
- 3 — — 2	1,85	1,29	4,98	4,49	2,7	3,5	0,8
- 5 — — 3	2,42	1,89	24,64	21,30	10,2	11,3	1,1
- 6 — — 4	2,37	1,98	31,33	29,51	13,2	14,9	1,7
- 7 — — 5	2,41	2,05	39,05	37,78	16,2	18,4	2,2
- 8 — — 6	2,89	1,78	50,09	39,41	17,3	22,8	5,5
-10 — — 7	2,89	1,91	55,90	50,46	19,3	26,4	7,1
-12 — — 8	3,26	2,07	64,15	58,34	19,7	28,0	8,3

Tredje Forsøgsrække.

	Middelgjærmængde (g).			Forgjæret Tørstof i 1 Liter (t).			Gjærvirksomhed $\left(\frac{t}{g}\right)$.			B ÷ A.	C ÷ A.	C ÷ B.
	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.	luftet Glas. A.	aabent Glas. B.	dækket Glas. C.			
	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.						
I 2 Døgn (Forsøg 9)	2,509	2,230	2,159	51,681	46,840	46,581	20,6	21,0	22,0	0,4	1,4	1,0
-3 - (- 10)	2,869	2,645	2,189	61,161	57,210	55,736	21,3	21,6	25,5	0,3	4,2	3,9
-4 - (- 11)	3,213	2,768	2,490	75,675	61,675	61,420	23,5	22,3	24,6	÷1,2	1,1	2,3

Resultatet heraf ses lettest af den grafiske Fremstilling E og F paa Tavle 2 og kan udtrykkes saaledes:

Naar der luftes under Gjæringen, er Gjærens Gjærvirksomhed mindre, end naar der ikke luftes under Gjæringen, eller med andre Ord: Naar der luftes under Gjæringen, saa er den Mængde Tørstof, som 1 Gram Gjær har omdannet til flygtige Stoffer, mindre, end naar der ikke luftes under Gjæringen.

Forsøg 1 stemmer ikke hermed; men dette er simpelthen en Følge af, at Gjærmængden ved Ikke-Luftning er funden for stor i dette Forsøg, som allerede ovenfor omtalt.

Forklaring til Tavle 2.

A. Til flygtige Stoffer omdannet Tørstof udtrykt i Gram.
B. Tør Gjær, udtrykt i Decigram.
C. Tørstof i 5 Kubctm., udtrykt i Centigram.
D. Vægtfylde i pro Cent efter Balling.
E. og F. Gjærvirksomhed.
G. Vægtfylde i pro mille efter Balling.
H. Tørstof i 10 Kubctm., udtrykt i Centigram.
J. Til flygtige Stoffer omdannet Tørstof, udtrykt i Gram.
K. Tør Gjær, udtrykt i Decigram.
× Luftning.
— Ikke-Luftning, aabent Glas.
• Ikke-Luftning, dækket Glas.

Tallene 1, 2, 3 . . . ere Forsøgenes Nummer.

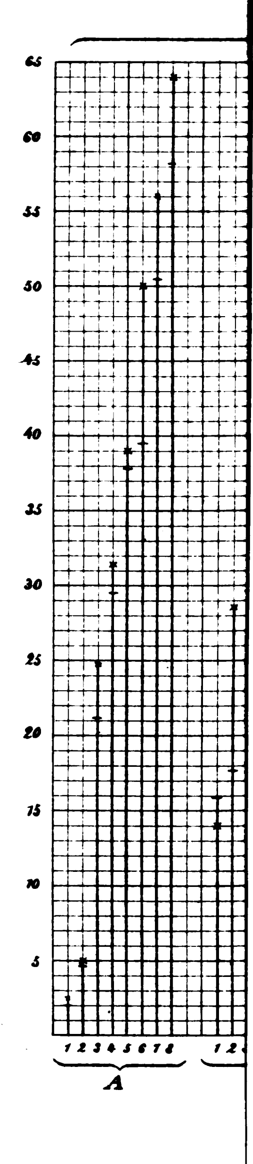
Under I, II og III aflæses Tallene tilvenstre: for I fra 0—65, for II fra 0—32,5 og for III fra 35—100.

III.

Undersøgelser over Varmegradens Indflydelse paa Udskilningen af Kulsyre hos Byg-Kimplanter i Mørke.

(Foreløbig Meddelelse.)

Af de Faktorer, der have Indflydelse paa Kimplanters Udskilning af Kulsyre, er der næppe nogen, der har saa stor Betydning som Varmegraden. Og dog synes det, at denne Faktor, trods de mange Forsøg, der lige fra forrige Aarhundrede af indtil Nutiden ere anstillede om Kulsyredannelsen hos Planterne, indtil den nyere Tid er bleven overset, hvorfor da ogsaa en stor Mangel klæber ved de fleste herhen hørende Forsøg.


65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
1 2 3 4 5 6 7 8
A
1 2

Sachs[1]) synes at være den, der først i 1865 har henledet Opmærksomheden paa Varmens Virkning paa Kimplanternes Kulsyredannelse, idet han siger: »Da die Entwicklungsgeschwindigkeit der Keime mit der Temperatur sich ändert, so wird wahrscheinlich auch das in der Zeiteinheit bei verschiedenen Temperaturen aus gleichartigen Keimpflanzen producirte Kohlensäurequantum sich ändern, Beobachtungen liegen darüber aber nicht vor.« —.

I den første halve Snes Aar efter denne Udtalelse af Sachs tog man imidlertid intet nærmere Hensyn til Temperaturen ved de Forsøg, man anstillede over Kimplanters Kulsyredannelse. Dette gjælder saaledes om de »Experimental-Untersuchungen über die Keimung der Samen,« som Wiesner[2]) i 1871 publicerede, og hvori blandt andet findes Undersøgelser om Gangen i Kulsyreudviklingen ved Hampens og Byggets Spiring. Disse Undersøgelser have imidlertid ikke nogen meget stor Værdi, ikke blot fordi Temperaturangivelserne fuldstændig mangle, men ogsaa fordi der i dem findes store Uregelmæssigheder. Jeg skal dog ved denne Lejlighed ikke gaa nærmere ind herpaa, men nøjes med exempelvis at anføre, at der paa et Udviklingsstadium, hvor Kulsyreudviklingen maatte foregaa med temmelig jævn Hastighed, fandtes en Udskilning af 36 Mgr. Kulsyre i 4 Timer, men 106 Mgr. i de paafølgende 2 Timer hos Hampen, og at der hos Bygget fandtes en Udskilning af 40 Mgr. Kulsyre i 2 Timer, men 103 Mgr. i de paafølgende 2 Timer hos de samme Kimplanter.

Ogsaa ved de i andre Henseender fortrinlige Undersøgelser af Sachsse[3]) om Ærters Spiring er det en ikke ringe Mangel, at der aldeles intet Hensyn er taget til Temperaturen, saa at det ikke kan ses, hvad der skyldes Temperaturen, og hvad der skyldes andre Faktorer.

Lige saa lidt angiver Detmer[4]) (1875), ved hvilke Varmegrader hans Forsøg med olieholdige Frøs Spiring ere anstillede, og det uagtet han skjelner mellem Forsøgsrækker ved højere og Forsøgsrækker ved lavere Temperatur!

---

[1]) Sachs: Handbuch d. Experimentalphysiologi der Pflanzen. 1865 p. 269.

[2]) Wiesner: Sitzungsbericht d. Wiener Akademi. 1871. 1 Abth. Octbr. Heft. p. 3 og 9 (Separataftryk).

[3]) R. Sachsse: Ueber einige chemische Vorgänge bei der Keimung von Pisum sativum. Habilitationsschrift. Leipzig 1872.

[4]) Detmer: Physiolog.-chemische Untersuchungen über die Keimung ölhaltiger Samen. 1875.



Den første, der gjorde særlige Undersøgelser over Varmens Indflydelse paa Kimplanternes Kulsyredannelse, er Laskovsky[1]) (1874) i sine Undersøgelser over Græskarfrøenes Spiring. I dette Arbejde, der er et af de vigtigste over de kemiske Processer ved Spiringen, paaviste Laskovsky et ved Kimplanternes Kulsyredannelse meget vigtigt Forhold, hvilket han, idet han uddrager Resultatet af sine Undersøgelser, udtrykker saaledes: »Bei gleichmässiger Temperatur wachsen fortwährend die in gleichen nach einander folgende Zeiteinheiten sich bildenden Kohlensäuremengen« (l. c. p. 231). Og paa et andet Sted udtrykker han dette Forhold med de Ord: »je weiter die Keimung fortschreitet, desto lebendiger wird die Entwicklung der Kohlensäure.« Han mener, at dette Forhold sandsynligvis ogsaa gjælder om andre Frø, og at det »von den übrigen Beobachtern nur daher nicht bemerkt wurde, weil dieselben die Keimungstemperatur gar nicht berücksichtigen«. Laskovsky har altsaa her paavist Kulsyredannelsens Afhængighed af Kimplantens Udviklings- eller Væxtstadium, eller med andre Ord, han har paavist Tilstedeværelsen af den saakaldte »store Periode« for Kimplanters Kulsyredannelse, ligesom den er paavist med Hensyn til Væxten[2]).

Jeg skal ikke paa dette Sted opholde mig længere ved dette Forhold, der vil blive gjort til Gjenstand for en egen Undersøgelse, naar jeg i sin Tid kommer til at undersøge de indre i Planten selv værende Faktorers Indflydelse paa Kulsyreudskilningen. Med Hensyn til Temperaturens Indflydelse uddrager Laskovsky af sine Undersøgelser følgende Resultat: »Das Steigen der Keimungstemperatur führt zu einer sehr schnell sich steigernden Kohlensäureentwicklung« (l. c. p. 231), og paa et andet Sted (l. c. p. 230) siger han: »Jedes Steigen oder Fallen der Temperatur bewirkt immer ein entsprechendes Steigen oder Fallen der sich erzeugenden Kohlensäuremenge«. Dette Resultat er uddraget af de i efterfølgende Tabel indeholdte Undersøgelser over den Mængde CO^2, som 10 Grm. Frø (Tørsubstans) udskiller i de angivne Tider, regnet fra Spiringens Begyndelse; dog ere de anførte Tal ikke fundne ved Iagttagelse, men ved Omregning, i det han ikke experimente-

[1]) **Laskovsky: Aus dem agriculturchemischen Laboratorium der Universität Moskov: über einige chem. Vorgänge bei der Keimung der Kürbissamen. Landwirthschaftl. Versuchstationen. 1874. B. XVII. p. 219.**

[2]) **Sachs: Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg. 1872. Heft. II. p. 102 og Pringsheims Jahrbücher für wiss. Botanik, 1860. II. p. 352.**

rede med 10 Grm. Frø, men med mindre Mængder: 4,347 Grm. — 8,875 Grm. eller med 16—21 Frø. CO^2-bestemmelsen blev udført hvert Døgn.

Regnet fra Spiringens Begyndelse, udskilte 10 Grm. Frø:

i 119	Timer	408	Mgr.	CO^2	ved	16°	i Forsøg	VI.
- 120	—	418	—	—	-	16°	—	VII.
- 119	—	421	—	—	-	16°—17°	—	XIII.
- 115	—	446	—	—	-	17°	—	XII.
- 96	—	1116	—	—	-	25°	—	IX.
- 95	—	1212	—	—	-	25°—27°	—	XV.
- 97	—	1267	—	—	-	25°—27°	—	V.
- 192	—	967	—	—	-	16°	—	VII.
- 186	—	1080	—	—	-	17°	—	XII.

Da imidlertid Laskovskys Forsøg kun ere udførte ved et Par forskjellige Varmegrader, kan man ikke af disse Forsøg se, i hvilket Omfang Temperaturen og Kulsyreudskilningen følges ad og heller ikke, hvorledes Kulsyreudskilningen voxer med Temperaturen, om den voxer i et med Temperaturen proportionalt Forhold eller i et andet Forhold, det være sig nu et stærkere eller et svagere. Skjøndt disse Forsøg vel kunde vække nogle kritiske Betænkeligheder, skal jeg dog ikke gaa ind herpaa, da de jo vist nok vise, at Kulsyreudskilningen stiger og falder med Temperaturen, og andet har jo da Laskovsky heller ikke udledt af dem.

Det næste Arbejde, der fremkom over Varmens Indflydelse paa Kimplanters Kulsyreudvikling, var af Borodin[1]), der fremlagde det ved den internationale botaniske Kongres i Florence i Maj 1875. Borodin havde stillet sig det Spørgsmaal, om den i Kimplanten foregaaende Forbrænding (ved hvilken en Del af Frøets Stivelse eller Olie under den atmosfæriske Ilts Indflydelse omdannes til Kulsyre og Vand) er en ren kemisk Proces, betinget ved Iltens Affinitet til Stivelse og Olie, eller om der existerer en nøjere Sammenhæng mellem Kimplantens Væxt og Iltningsprocessen, hvorved denne vilde vise sig som en væsentlig Livsproces. Han tror, at dette Spørgsmaal bedst kan løses ved et nøjagtigt Studium af den Indflydelse, som de ydre Agentier, især Varmen, udøver paa Kulsyreudviklingens Intensitet. Er Kulsyreudviklingen afhængig af Væxthastigheden, saa maa den, ligesom denne, ved en bestemt

1) Borodin: Sur la respiration des plantes. Actes du Congrés botanique international de Florence. 1875. p. 11. Da denne Afhandling ikke har været mig tilgængelig, holder jeg mig til Referatet i »Botanischer Jahresbericht«. 1875. III p. 880.

Temperatur opnaa et Maximum og ved endnu højere Temperatur igjen blive mindre. Derimod mener han, at hvis Respirationen er en rent kemisk Proces, maa Mængden af den producerede Kulsyre stige proportionalt med Temperaturen.

Borodin fandt ved sine Undersøgelser, der bleve anstillede med Karse, at Kulsyredannelsen tiltager temmelig regelmæssig fra Forsøgets Begyndelse, saaledes at Formen af Kurven for Kulsyreudskilningens saakaldte store Periode nærmer sig til at være en ret Linie, der stiger mere eller mindre stejlt, afhængigt af Temperaturen; men varer Forsøget længe nok, kommer der et Punkt, hvor Kurven langsomt begynder at falde. Jo højere Temperaturen er, desto større er Kulsyreudskilningens Maximum, og desto tidligere indtræder det.

1,8 Grm. spirende Karsefrø udskilte paa den Tid, da Kulsyreudskilningen var stærkest:

0,004 Grm. CO^2 i 1 Time ved 11°—12°
og 0,006 — — — — 15°—16°.

Om denne Lov gjælder for alle Varmegrader, eller om der existerer et Temperatur-Optimum, havde Borodin ikke kunnet afgjøre paa den Tid, da Kongressen afholdtes. — Men til den trykte Afhandling er der føjet et Tillæg fra Oktober 1875, i hvilket Undersøgelserne ere førte videre. Han havde fundet, at 1,8 Grm. spirende Karsefrø udskilte paa den Tid, da Kulsyreudskilningen var stærkest:

0,008 Grm. CO^2 i 1 Time ved 19°—20°
og 0,009 — — — — 24°.

Endvidere vil han have fundet, at Maximum for Kulsyredannelsen ikke endnu er indtraadt ved 24°.

Han omtaler de Undersøgelser, som Wolkoff og Mayer[1]) have gjort om Varmens Indflydelse paa Iltoptagelsen ved Spiringen, og hvorved de kom til det Resultat, at Iltoptagelsen er proportional med Temperaturen og vedbliver at stige med denne, saalænge Planterne ere i Live. Af sine Forsøg udleder nu Borodin det allerede ovenfor anførte Resultat for Kulsyreudskilningen, som altsaa skal være proportional med Temperaturen og ikke have noget Temperatur-Optimum og altsaa skal være en rent kemisk Proces. Ved højere Varmegrader fandt Borodin rigtig nok afvigende Resultater, men han forklarer dette deraf, at der ved højere Temperatur let indtræder Skimmeldannelse, der for-

[1]) Wolkoff u. Mayer: Beiträge z. Lehre über die Athmung der Pflanzen, i Landwirthschaftl. Jahrbücher. 1874. III. Bd. p. 481.



styrrer Forsøgene, og virkelig fandtes der ved højere Temperatur altid et større Antal Frø, der ikke spirede.

Men de Differenser i Kulsyremængderne, som Forsøgene ved forskjellige Temperaturer have givet, ere saa ubetydelige — nemlig 1—2 Mgr. —, at de aldeles falde indenfor Fejlgrænserne, forudsat at de anførte Tal ere direkte fundne og ikke ere udledte ved Beregning af Iagttagelser, der have strakt sig over et længere Tidsrum. Da nu tilmed Temperaturangivelserne ere temmelig vage, og Forsøg ved lavere Temperatur savnes, saa tør man næppe lægge nogen videre Vægt paa Borodins Forsøg.

Vi komme nu til de nyeste og unægtelig ogsaa de bedste Undersøgelser over Temperaturens Indflydelse pna Kimplanters Kulsyredannelse, nemlig de af Rischawi[1]) i Odessa 1876 anstillede.

Rischawi benyttede til sine Forsøg Kimplanter af Vicia faba, der fortrinlig egne sig til visse fysiologiske Forsøg, i det den store Periodes Indflydelse let kan udelukkes. Ved mine Undersøgelser over Varmens Indflydelse paa Rodens Væxt har jeg, for at fjærne den store Periodes Indflydelse, først benyttet det Forhold, at Kimrodens Væxtkurve for den store Periode, naar det første Spiringsstadium er forbi, i lang Tid hos denne Plante gaar parallel med Abscisseaxen, saaledes at man altsaa er fri for den store Periodes Indflydelse, naar man først benytter Kimplanterne, efter at denne Fase er indtraadt. Rischawi benyttede det samme Forhold, efter at han først havde eftervist, at Kurven for Kulsyreudviklingens store Periode ligeledes i nogen Tid gaar parallel med Abscisseaxen, naar Kimplanterne først have naaet et vist Udviklingsstadium. Resultatet af Rischawis Forsøg kan ses af følgende Oversigt:

I første Forsøgsrække med de samme 23 Kimplanter iagttoges en Kulsyreudskilning i 1 Time af:

39,6	Mgr.	ved	20°.
32,3	—	-	18°.
21,22	—	-	6°.
10,56	—	-	2°.

I anden Forsøgsrække med 18 Kimplanter iagttoges en Kulsyreudskilning i 1 Time af:

24,42	Mgr.	ved	19°.
7,26	—	-	3°.

[1]) Rischawi: Einige Versuche über die Athmung der Pflanzen. Landwirthsch. Versuchsstationen. 1876. Bd. XIX p. 321.

I tredie Forsøgsrække med 15 Kimplanter iagttoges en Kulsyreudskilning i 1/2 Time af:

12,21 Mgr. ved 20°.
23,76 — - 30°.
29,70 — - 35°.

Heraf udleder han følgende:

»Bei niedrigen Temperaturen, fast bei 2° C., haben die Pflanzen immer noch eine gewisse Menge Kohlensäure ausgeschieden. Diese Thatsache zeigt, dass die Athmung schon bei so niedrigen Temperaturen stattfindet, bei welchen die Pflanze sich nicht entwicheln kann. Hiernach steigert sich die Athmung beinahe proportional der Temperatur, bis diese Grade erreicht, bei welchen das Wachsthum der Pflanze am stärksten beschleunigt wird, und steigt dann noch weiter, bis die Temperatur Grade erreicht, bei welchen das Wachsthum endlich vollkommen aufhørt«.

Til disse Resultater kommer jeg tilbage paa et andet Sted i denne Afhandling, hvor jeg skal sammenligne dem med Resultatet af mine egne Undersøgelser.

Rischawis Forsøg ere de sidst publicerede over det her behandlede Æmne, hvorom dog endnu en Forsker har anstillet Undersøgelser, men han har i Anledning af Rischawis Forsøg, hvilke han kjendte før end de bleve publicerede, holdt Publikationen af sine Iagttagelser tilbage. Jeg sigter her til A. Mayer, der i de senere Aar saa ufortrødent, men i det Hele taget maaske noget vel hurtigt, har arbejdet i Planternes Respiration, nemlig i Spørgsmaalet om deres Optagelse af Ilt. Mayer[1]) har i flere Arbejder søgt at paavise, at Iltoptagelsen er proportional med Varmegraden, og at den ikke har noget Temperatur-Optimum, og at følgelig Længdevæxt og Respiration (Iltoptagelse) ikke have noget med hinanden at gjøre. Hvorledes dette forholder sig, vil jeg foreløbig lade staa hen, indtil jeg kan forelægge egne Undersøgelser herom.

Da Mayers tidligere Medarbejder v. Wolkoff er bleven ansat som Professor i Plantefysiologi i Odessa, og da Rischawis Arbejde er udført i Wolkoffs Laboratorium, er der ikke noget paafaldende i, at Mayer har kjendt Rischawis Forsøg førend deres Offentliggjørelse[2]). Mayer siger om dem, at de langt bedre end hans egne

[1]) Mayer u. Wolkoff: Beiträge zur Lehre über die Athmung der Pflanzen, Landwirthsch. Jahrbücher. 1874. III. 481

[2]) Mayer: Die Abhängigkeit der Pflanzenathmung von der Temperatur. Landwirthsch. Versuchsstationen. 1876. XIX. p. 348.

Forsøg ere i Stand til at vise, at Kulsyreudskilningskurven synes at forløbe som en ganske ret Linie. Mayers egne Forsøg over Varmens Indflydelse paa Kimplanternes Kulsyreudskilning have været anstillede med Hvede, altsaa med en anden Plante end den, Rischawi benyttede. Allerede derfor burde Mayer ikke have holdt Offentliggjørelsen af sine Forsøg tilbage. Men nu siger Mayer om sine Forsøg: »Nur eine schwache Convexität der Kohlensäureausscheidungscurve gegen die Abscissenachse der Temperatur wurde beobachtet.«

Borodin, hvis ovenanførte Undersøgelser Mayer kjendte, og Rischawi vare jo komne til det Resultat, at Kulsyreudskilningen var proportional med Temperaturen, eller at Kulsyreudskilningskurven, betragtet som Funktion af Temperaturen, er en ret Linie, medens Mayers Forsøg altsaa skal have vist, at Kulsyreudskilningskurven er en krum Linie. Mayers Forsøg skal altsaa have ført til et noget andet Resultat end hans to Forgængeres. Ogsaa derfor burde Mayer helst have offenliggjort sine Forsøg.

Egne Undersøgelser.

1. Undersøgelsesmethode.

A. Respirationsapparatet.

Et til Undersøgelser over Planters Kulsyreudskilning brugeligt Apparat maa tilfredsstille den Fordring, at Planterne under Forsøget skulle befinde sig saa vidt muligt under normale Forhold, saa at deres Væxt og Udvikling kan foregaa paa normal Maade, uden at deres Sundhed lider Skade, og følgelig maa Respirationsprodukterne, navnlig den udviklede Kulsyre, ikke ophobe sig i Apparatet. Ved det Apparat, som jeg har construeret til Brug ved mine Undersøgelser over Kulsyreudskilningen hos Planter, er denne Fordring opfyldt derved, at en fra sin Kulsyre befriet Strøm af atmosfærisk Luft (altsaa en Luftstrøm af Ilt og Kvælstof) ledes igjennem den Beholder, hvori Forsøgsplanterne befinde sig, Respirationsbeholderen, i hvilken Luftstrømmen optager den af Planterne udskilte Kulsyre, som derpaa bliver absorberet saaledes at dens Mængde kan bestemmes. Apparatet kommer til at bestaa af 4 Dele: 1) den Del af Apparatet, der skal fjærne Kulsyren fra den atmosfæriske Luft, førend den kommer ind til Planterne, 2) Respirationsbeholderen, hvori Planterne findes, 3) den Del af Appa-

ratet, der skal fjærne og opsamle den af Planterne udskilte og i Respirationsbeholderen af Luftstrømmen optagne Kulsyre, og 4) Aspiratoren, der driver Luftstrømmen gjennem hele Apparatet.

1. Den Del af Apparatet, der tjener til at fjærne den atmosfæriske Lufts Kulsyre, bestaar i et med Natronkalk fyldt U-formigt Absorptionsrør ligesom ved en Elementæranalyse. For at prøve, om den atmosfæriske Lufts Kulsyre er bleven fuldstændig absorberet af Natronkalken ved at passere Absorptionsrøret, ledes Luftstrømmen fra dette ikke umiddelbart ind i Respirationsbeholderen, men der er mellem Absorptionsrøret og Respirationsbeholderen indskudt et Prøverør, et langt Glasrør med Barytvand, hvilket Luftstrømmen passerer, førend den kommer ind i Respirationsbeholderen. Kun hvis Barytvandet i dette Prøverør holder sig klart, er Luftstrømmen kulsyrefri.

2. Respirationsbeholderen, hvori Forsøgsplanterne findes, bestaar af en trehalset Flaske, der rummer henved 1 Liter. Gjennem den mellemste Aabning gaar et Thermometer, der har en lang Hals, og gjennem de to andre Aabninger ledes Luftstrømmen ind i og ud af Flasken, saaledes at det Glasrør, der fører den kulsyrefri Luft ind i Flasken, kun er ganske kort, medens det Glasrør, der fører Luften ud af Flasken, er saa langt, at det naar helt ned til Flaskens Bund for at forhindre den af Kimplanterne udskilte Kulsyre i at samle sig paa Bunden af Flasken og saaledes blive tilbage i denne.

3. For at kunne bestemme den Kulsyre, som Luften har optaget i Respirationsbeholderen, ledes Luftstrømmen fra denne gjennem et langt Absorptionsrør med titreret Barytvand, og for at se, om al Kulsyren er bleven absorberet, ledes Luftstrømmen derpaa gjennem et Prøverør, et langt, ligeledes med titreret Barytvand fyldt Glasrør, der dels tjener som Indikator for Kulsyrens fuldstændige Absorption i Absorptionsrøret og dels kan tjene til at absorbere en mulig Rest af Kulsyre.

4. For at kunne drive Luftstrømmen gjennem hele dette Rørsystem, er det sidste Prøverør sat i Forbindelse med en Stammersk Dryppeaspirator[1]), der forsynes med Vand fra en meget stor Flaske, der forneden er forsynet med en Tubus, fra hvilken et Kautschukrør gaar hen til Aspiratoren. Ved Hjælp af den Hofmanske Skrue-Klemmehane kan Kautschukrøret klemmes sammen, saaledes at Vandtilførselen til Aspiratoren og dennes Gang derved

---

[1]) Beskrivelse og Afbildning af denne Aspirator findes i Fresenius's Zeitschrift f. analyt. Chemie, II. p. 359.

kan reguleres meget nøjagtigt og fint. Apparatets forskjellige Dele ere lufttæt forbundne ved Hjælp af Kautschukpropper, Glasrør og korte Kautschukrør. Ethvert af de tre Rør med Barytvand er c. 1 Meter langt og rummer c. 250 Kubctm. Vædske. De ere ikke lige, men bøjede under en stump Vinkel, saaledes at de have en kort og en meget lang Gren. Ved Udtrædelsesenden er hvert Rør blæst ud til en Kugle, der gaar over i et snævert, lidt skraat opad rettet, kort Rør, hvorover det forbindende Kautschukrør skydes. I Barytvandsrørets Indtrædelsesende, der er lidt konisk udvidet, er indskudt en nøjagtig sluttende Kautschukprop med to Boringer. Gjennem den ene af disse Boringer gaar et snævert Glasrør af samme Tykkelse som det ovennævnte Rør. Den Ende af det snævre Glasrør, der rager uden for Proppen, tjener til at iværksætte Forbindelsen, ligesom det Rør, der udgaar fra Kuglen, men over den anden Ende, der rager ind i Barytrøret, er skudt et Kautschukrør, der hænger ned i Barytvandet og naar til Begyndelsen af Barytrørets lange Gren. I dette Kautschukrør er anbragt et meget kort Stykke Glasrør med en snæver Aabning, hvorved man opnaar, at de Luftblærer, der passere Barytrøret, blive smaa. Forresten er dette Stykke Glasrør i mange Tilfælde ikke nødvendigt. Gjennem Kautschukproppens anden Boring gaar et kort Glasrør, over hvis uden for Proppen værende Ende er krænget et kort Stykke Kautschukrør, som kan aabnes og lukkes ved en Klemmehane. Herved bliver det muligt, uden at tage Proppen ud, at bringe Barytvand ind i Rørene og at forandre Lufttrykket i dem. Under Forsøget skal Klemmehanen lukke lufttæt; men naar man vil tappe Barytvandet ud, skal Klemmehanen aabnes. — Paa det Sted, hvor Barytrørets korte og lange Gren støde sammen, er et snævert Udløbsrør anbragt, over hvilket er skudt et Stykke Kautschukrør, der lukkes ved en Klemmehane, saa at man herigjennem kan tappe Barytvandet ud af Barytrørene, uden at man behøver at fjærne dem fra deres Plads. Barytrørene ere altsaa i alt Væsentligt indrettede som de Pettenkoferske. Afvigelsen fra disse bestaar deri, at disse intet Afløbsrør have, og at Kautschukproppen kun har een Gjennemboring.

Barytrørene holdes i deres Stilling ved Hjælp af det Muenckeske Stativ med cylindrisk Stang. I dette Stativs med Kork fodrede Klemmer ligge Barytrørene godt fast, og formedelst Klemmernes cylindriske Skaft kunne Rørene med Lethed stilles i forskjellige Skraastillinger. Under Forsøget er det bedst at stille Barytrørene saaledes, at deres lange Gren næsten er vandret, hvorved Luftblærernes Gang gjennem Barytvandet bliver langsommere.

Den Hastighed, hvormed Luftblærerne passere, er afhængig af Rørenes Stilling. Luften skal passere gjennem Barytrøret saaledes, at den ruller langsomt og i smaa Blærer hen igjennem Barytvandets øverste Lag. Ved god Gang af Apparatet gaar der en Række af lige store, smaa Luftblærer gjennem Barytvandsrørene.

Fyldningen af Barytvandsrørene med det titrerede Barytvand, der opbevares i en stor Flaske med vid Hals og tæt sluttende Prop, sker ved Hjælp af en inddelt Pipette. Barytvandet i de to Rør, der tjene som Indikatorer, fornyes ikke, saa længe det holder sig klart; hvorimod naturligvis Absorptionsrøret ved hvert Forsøg maa fyldes paany med titreret Barytvand. Er Forsøget endt, tappes Barytvandet ud af Absorptionsrøret og samles i en lille Flaske med tætsluttende Glasprop. Man lader det henstaa, indtil den kulsure Baryt har bundfældet sig, og indtil man vil foretage Kulsyrebestemmelsen.

B. Kulsyrebestemmelsen.

Den af Barytvandet i Absorptionsrøret absorberede Kulsyre bestemmes ved Titrering med Oxalsyre efter den Pettenkoferske Methode, dog med den Afvigelse, at ikke Curcuma-Papir, men en alkoholisk Rosolsyreopløsning, hvoraf nogle Draaber sættes til Barytvandet ved Titreringen, benyttes som Indikator. Den Oxalsyreopløsning, der benyttes, er dannet ved Opløsning af 2,8636 Gram ren, krystalliseret, ikke henfalden Oxalsyre i 1 Liter destilleret Vand. Af denne Opløsning er 1 Kubctm. ækvivalent med 1 Mgr. Kulsyre. Barytvandet er dannet ved Opløsning af Barythydrat og lidt Chlorbaryum[1]) i destilleret Vand i et saadant Forhold, at man faar en koncentreret Opløsning. Af denne Opløsning danner man ved Fortynding med destilleret Vand et svagere Barytvand af en saadan Styrke, at omtrent 1 Kubctm. mætter 1 Kubctm. af den titrerede Oxalsyreopløsning. Det vilde være unyttigt at afpasse Barytvandets Styrke saaledes, at 1 Kubctm. Barytvand nøjagtig kom til at mættes af 1 Mgr. Kulsyre; thi Barytvandets Styrke vilde ikke længe holde sig uforandret, og den maa altid bestemmes ved hvert Forsøgs Begyndelse. Ved hvert Forsøg er 100 eller 150 eller 200 Kubctm. af dette Barytvand bragt ind i Absorptionsrøret.

C. Temperaturen.

Forsøgene ere udførte i et mørkt Værelse, der havde en temmelig konstant Temperatur, i det Sollyset var holdt ude ved

[1]) Annalen d. Chemie u. Pharmacie, II Supplementband 1862. p. 27.

forskydelige Træskodder for Vinduerne, der vendte mod Nord og Øst. De forskjellige Varmegrader ved Forsøgene ere tilvejebragte ved at sænke Respirationsflasken ned i Vand af forskjellig Temperatur, hvilket indeholdtes i et stort med et tykt Lag Vat omviklet Bægerglas. Respirationsflasken berører intet Steds Bægerglasset, men holdes midt i det ved Hjælp af Korkstykker, der klemmes ind mellem Bægerglasset og Flasken, og oven over lægges Vat, saaledes at kun Respirationsflaskens Thermometer og et i Vandet nedsænket Thermometer rage frem. Vand af forskjellig Temperatur blev tilvejebragt ved Afkøling med Is eller ved Blanding med varmt Vand.

Da det ikke kommer an paa Lufttemperaturen, men paa Forsøgsplanternes Temperatur, maa Respirationsflaskens Thermometer have en lang Hals og skydes saa langt ned igjennem Proppen, at Thermometerkuglen kommer til at befinde sig midt i Forsøgsplanternes Masse.

Temperaturen maa aflæses hver 10de eller 15de Minut, og har den varieret noget under Forsøget, maa Middeltemperaturen beregnes saaledes, at Tiden, hvori de forskjellige Temperaturer have indvirket, tages med i Beregningen, saaledes som jeg har angivet det.[1])

D. Forsøgsplanterne.

Forsøgene ere udførte med Kimplanter af Byg. Denne Forsøgsplante er valgt, fordi den, uagtet dens store industrielle Betydning, dog ikke i nogen synderlig høj Grad har været gjort til Gjenstand for fysiologisk Forskning, og fordi det maa anses for en af Carlsberg Laboratoriets Hovedopgaver at tilvejebringe Kundskab om Bygplanten, navnlig hvad Spiringsprocessen angaar. Men hertil kommer, at Byg-Kimplanter kunne, hvad vi kjende fra Maltningsprocessen, udvikle sig og voxe normalt i lang Tid i fugtig Luft hovedsagelig paa Bekostning af det Vand, Frøet har opsuget ved Udblødningen, og dette Forhold er netop af den største Vigtighed ved disse Forsøg.

Da det er en Hovedfordring ved alle plantefysiologiske Forsøg, at man kun experimenterer med sunde Forsøgsplanter af ligelig Udvikling og ligelig Udviklingsdygtighed, er det ikke heldigt til Forsøg at anvende Frø, der endnu ikke have spiret.[2]) Først efter at Spiringen er begyndt, og efter at Kim-

[1]) Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg 1875 p. 568.

[2]) Ved de p. 86 citerede Forsøg af Wiesner (Sitzberichte d. Wiener-Academie 1871) experimenterede han med 100 »dem Anscheine nach

planterne have naaet en vis Udvikling, er man i Stand til at foretage et Udvalg af Kimplanter, der tilfredsstille den ovennævnte Fordring. I det man foretager denne Sortering og bringer Kimplanterne ind i Respirationsbeholderen, maa man være meget forsigtig for ikke at beskadige Kimplanterne og kun fatte Frøet med en Pincet. For at udelukke den store Periodes Indflydelse, tør Kimplanterne ikke benyttes strax i Begyndelsen af deres Udvikling, men først, naar de er kommet til et saadant Udviklingstrin, at Kurven for den store Periode bliver mindre stejl, hvilket vil være Tilfældet omtrent ved den Tid, da Kimknoppen (Bladspiren) er i Færd med at gjennembryde Frøskallen. For saa vidt som muligt at holde Kimplanterne paa samme Udviklingsstadium under en Forsøgsrække, stilledes de udenfor Forsøgstiden i et Isskab i en Temperatur af 4°—5°. Herved er det ogsaa betydelig lettere at holde Planterne sunde, end naar man lader dem henstaa ved en højere Temperatur. — I de forskjellige Forsøgsrækker have Planterne ikke været paa ganske det samme Udviklingstrin, hvorfor da heller ikke Kulsyremængderne i de forskjellige Rækker ere de samme; men herpaa ligger der ingen Vægt. Det, som det kommer an paa, er, at Kimplanterne i de til samme Række hørende Forsøg befinde sig saavidt muligt paa samme Udviklingstrin.

For at undgaa de individuelle Forskjelligheders Indflydelse, ere de til en Forsøgsrække hørende Forsøg alle udførte med det samme Sæt Kimplanter.

I Respirationsflasken, hvori Forsøgsplanterne findes, maa der ikke staa Vand paa Bunden; thi derved komme de nederste Frø til at ligge i Vand, og Planternes Udvikling og Væxt bliver da let abnorm.

Sunde Byg-Kimplanter have en karakteristisk frugtagtig Lugt, hvorved det er let stadig at kontrollere Forsøgsplanternes Sundhedstilstand.

2. Forsøgene og deres Resultater.

Forsøgene og deres Resultater ere fremstillede i de følgende Oversigter, der ingen nærmere Forklaring behøve. Det skal blot

---

gesunde Gerstenkörner«, men under Forsøget maatte han fjærne de Korn, der ikke spirede og nogle »verkümmerte« Kimplanter, og der blev da kun 63 tilbage. I hans Forsøg med Hamp blev der af 200 tilsyneladende sunde Frø kun 163 sunde Kimplanter tilbage, efter at de ikke spirede Frø og de daarlige Kimplanter i Løbet af Forsøget vare fjærnede.

bemærkes, at Forsøgene i hver Række just ikke ere anstillede i den Orden, hvori de anføres.

Første Forsøgsrække. 500 Forsøgsplanter. Kurve 1. Tavle 3.

	Varme °C.	Den iagttagne Kulsyremængde.	Den i 1 Time udskilte Kulsyremængde.
Forsøg 1	0,3	21,0 Mgr. i 2 Tim.	10,5 Mgr.
Forsøg 2	5	30,0 — - 2 —	15,0 —
Forsøg 3	16	66,5 — - 2½ —	26,6 —
Forsøg 4	26,2	64,0 — - 1 —	64,0 —
Forsøg 5	33,6	94,0 — - 1 —	94,0 —

Anden Forsøgsrække. 1000 Forsøgsplanter. Kurve 2. Tavle 3.

	Varme °C.	Den iagttagne Kulsyremængde.	Den i 1 Time udskilte Kulsyremængde.
Forsøg 6	0,87	26 Mgr. i 4 Tim.	6,5 Mgr.
Forsøg 7	7,0	27,0 — - 3 —	9,0 —
Forsøg 8	16,5	68,0 — - 3 —	22,7 —
Forsøg 9	18,0	55,2 — - 2 —	27,6 —
Forsøg 10	29,5	111,2 — - 2 —	55,8 —
Forsøg 11	33,4	60,0 — - 1 —	60,0 —

Tredje Forsøgsrække. 1000 Forsøgsplanter. Kurve 3. Tavle 3.

	Varme °C.	Den iagttagne Kulsyremængde.	Den i 1 Time udskilte Kulsyremængde.
Forsøg 12	4,5	38,0 Mgr. i 4 Tim.	9,5 Mgr.
Forsøg 13	8,1	27,0 — - 2½ —	10,8 —
Forsøg 14	15,3	33,0 — - 2 —	16,5 —
Forsøg 15	18,0	121,5 — - 5 —	24,3 —

Fjerde Forsøgsrække. 200 Forsøgsplanter. Kurve 4. Tavle 3.

	Varme °C.	Den iagttagne Kulsyremængde.	Den i 1 Time udskilte Kulsyremængde.
Forsøg 16	5,0	9,4 Mgr. i 2 Tim.	4,7 Mgr.
Forsøg 17	18,0	28,8 — - 3 —	9,6 —
Forsøg 18	27,8	17,4 — - 1 —	17,4 —

Femte Forsøgsrække. 100 Forsøgsplanter. Forsøgene foretagne umiddelbart efter hinanden uden Afbrydelse.

	Varme °C.	Den iagttagne Kulsyremængde.	Den i 1 Time udskilte Kulsyremængde.
Forsøg 19	0	12,5 Mgr. i 3 Tim	4,2 Mgr.
Forsøg 20	0	8,0 — - 2 —	4,0 —
Forsøg 21	0 - 4,5	61.0 — - 12 —	5,1 —
Forsøg 22	0	21,0 — - 4 —	5,2 —

En mere anskuelig Forestilling om Temperaturens Indflydelse paa Kimplanters Kulsyreudskilning, end man faar af Tabellerne, opnaar man ved den grafiske Fremstilling i Kurver, i det Temperaturen afsættes som Abscisse og den tilsvarende i 1 Time udskilte Kulsyremængde som Ordinat. Man vil se, at Kurvernes Form i alle Forsøgsrækkerne, navnlig i de tre første Rækker, stemme fuldstændig overens. Som allerede tidligere omtalt, have Forsøgsplanterne ikke befundet sig ganske paa det samme Udviklingstrin i de forskjellige Rækker, og derfor ere de til samme Abscisse (Temperatur) hørende Ordinater (Kulsyremængder) ganske vist ikke de samme i de forskjellige Rækker; men dette har aldeles ingen Indflydelse paa Kurvernes Form, og kun herpaa kommer det an, ikke paa de absolute Tal. I denne Overensstemmelse i Kurverne fra de forskjellige Rækker samt i de enkelte Kurvers Regelmæssighed har man Garanti for Resultaternes Rigtighed.

Ved Betragtning af Kurverne fremgaar følgende:

Byg-Kimplanternes Kulsyreudskilningskurve, betragtet som Funktion af Temperaturen, er en krum Linie, der stiger med Abscissen og vender den konvexe Side mod Abscisseaxen.

Kurven begynder med et svagt krummet Stykke, der har en ringe Stigning, gaar ved 15°—18° gjennem et stærkt krummet Stykke over i et svagt krummet Stykke, der har en meget stærk Stigning.

Den Mængde Kulsyre, som Kimplanter udskille i en vis Tid, voxer med Temperaturen inden for de her anvendte Varmegrader fra 0° til 33,5°, men ikke i et med Temperaturen proportionalt Forhold. Ved lave Varmegrader er Kulsyreudskilningen kun meget svagt stigende med Temperaturen, men den bliver fra 15°—18° af meget stærkt stigende med Temperaturen.

Hvad angaar Temperaturgrænserne for Kulsyreudskilningen, maa det forbeholdes senere Undersøgelser at finde den øverste Grænse og at afgjøre, om der gives et Temperatur-Optimum. Forsøg 11 kunde tyde hen paa, at Kurve 2 paa Tavle 3, ved $30,_1{}^0$ var i Færd med at falde, men ses hen til, at Kurve 1 ved $33,_6{}^0$ endnu er stigende (Forsøg 5), er det muligt, at Kulsyremængden i Forsøg 11 af en eller anden Grund er funden for lav, men det er ogsaa muligt, at Kulsyremængden i Forsøg 5 er funden for høj. Hvorledes det er, maa Forsøg ved endnu højere Varmegrader afgjøre

Man tør altsaa kun sige:

Kulsyreudskilningens Temperatur-Maximum og Temperatur-Optimum, hvis et saadant existerer, ligge hos Byg-Kimplanter ikke lavere end $33,_5{}^0$.

Hvad Kulsyreudskilningens Temperatur-Minimum angaar, vise Forsøgene, at Kulsyreudskilningen endnu finder Sted ved meget lave positive Varmegrader. Saaledes var der i Forsøg 6 Kulsyreudskilning ved $0,_{87}{}^0$ og i Forsøg 1 ved $0,_3{}^0$. Ja selv endnu ved 0^0 fandtes Kulsyreudskilning i Forsøgene 19, 20 og 22 af den femte Forsøgsrække. Man kunde maaske tænke, at den ved disse lave Temperaturer fundne Kulsyre var dannet ved en højere Temperatur, var holdt tilbage i Væveue og først diffunderede ud ved den lavere Temperatur, eller man kunde mene, at den ved disse lave Varmegrader fundne Kulsyre slet ikke stammede fra Planterne, men fra den i Respirationsflasken ved Forsøgets Begyndelse tilstedeværende atmosfæriske Luft. Men en nærmere Betragtning viser, at hverken den ene eller den anden af disse Antagelser holder Stik.

Ved det ikke store Rumfang, Respirationsflaskens Luft havde, vil den sidstnævnte Kilde være alt for lille til, at man skulde kunne føre den fundne Kulsyremængde tilbage hertil, hvortil kommer, at der i Forsøg 20 ved Forsøgets Begyndelse slet ikke fandtes atmosfærisk Luft i Respirationsflasken; thi Forsøget er gjort i umiddelbar Kontinuitet af Forsøg 19, saaledes at den ved Slutningen af Forsøg 19 i Respirationsflasken værende Luft ved en Klemmehane blev afspærret, medens der kom nyt Barytvand i Absorptionsrøret. saa at der ingen atmosfærisk Luft kunde trænge ind i Flasken, For Forsøg 19 kunde man vel gjøre gjældende, at der fandtes atmosfærisk, altsaa ikke kulsyrefri, Luft i Respirationsflasken fra Begyndelsen af, men denne Indvending gjælder ikke for Forsøg 20; og dog fandtes i begge Forsøg den selvsamme Kulsyremængde. — Lige saa lidt som den ved de lave Varmegrader fundne Kulsyre kan antages at stamme fra atmosfærisk Luft i Respirationsflasken, lige saa lidt kan den anden Antagelse, at Kulsyren skulde være

produceret ved en højere Temparatur og kun udskilt ved den lavere Temperatur, holde Stik; thi man vil da ikke kunne forstaa, hvorledes de ved de lave Temperaturer fundne Kulsyremængder saa godt som Kurverne udvise kunne passe ind i Rækken af de andre. Heller ikke kan man i saa Fald forstaa, hvorledes alle Forsøgene ved 0° i den femte Forsøgsrække kunne give det samme Resultat; man maatte jo vente, at man i de senere Forsøg ved 0° maatte finde en mindre Kulsyremængde end i det første. Men den var jo i Forsøg 22 ikke mindre end i Forsøg 19, den var endog 1 Mgr. større, en Forskjel, der dog er intetsigende, da den er saa lille, at den fuldstændig falder inden for Fejlgrænserne.

Man kommer saaledes til følgende Resultat:

Byg-Kimplanterne ikke blot udskille, men producere ogsaa Kulsyre ved en Temperatur af 0°.

Hvor den laveste Temperaturgrænse for Kulsyreudskilningen og Kulsyreproduktionen ligger, har jeg endnu ikke undersøgt. Men den kjendelige Kulsyreudskilning ved 0° berettiger vel til den Slutning, at Temperatur-Minimum for Kulsyreudskilningen ligger nogle Grader under 0°. Til samme Resultat kommer man ogsaa ved at søge det Punkt, hvor Kulsyreudskilningskurvens Forlængelse vil skære Abscisseaxen. Selv om Kulsyreudskilningskurven hinsides 0° muligvis forandrer Krumningsretning, saa ligger alligevel Skæringspunktet under 0°. Hvor vidt dette Punkt falder sammen med den Temperatur, ved hvilken Plantens Safter blive til Is, hvilket jo først finder Sted under 0°, maa senere Undersøgelser afgjøre; men det er ikke usandsynligt, at Temperatur-Minimum for Kulsyreudskilningen og Cellesaftens Frysepunkt falde sammen. For Øjeblikket tør man kun sige saa meget:

Den laveste Temperatur, ved hvilken Byg-Kimplanterne kunne udskille Kulsyre, maa ligge under 0°.

3. Sammenligning mellem mine og mine Forgængeres Resultater.

I det første Afsnit af denne Afhandling har jeg givet en Analyse af Laskovskys og Borodins Arbejder, hvortil jeg ikke her skal komme tilbage; men derimod er det nødvendigt atter at tage Hensyn til Rischawis Undersøgelser. Rischawi selv og Mayer have af disse Undersøgelser sluttet, at Kulsyreudskilningen er proportional med Temperaturen, og at Kulsyreudskilningskurven altsaa er en ret Linie, hvilket er et ganske andet Resultat end det, hvortil mine Undersøgelser have ført. Men det var jo muligt, at denne Afvigelse kunde hidrøre derfra, at vi have benyttet forskjellige Forsøgsplanter,

endskjøndt det rigtignok er usandsynligt, at et saa vigtigt Forhold ikke skulde være samme Lov underkastet hos alle Planter.

Af Rischawis tre Forsøgsrækker maa vi lade den anden ude af Betragtning; thi da der i den er anstillet Forsøg ved kun to Temperaturgrader, kunne vi ved den kun bestemme to Punkter i Kurven, medens dog i det mindste tre Punkter ere nødvendige for at kunne afgjøre, om vi have en ret eller en krum Linie for os. Se vi paa den tredje Forsøgsrække med Forsøg ved 20°, 30° og 35°, og konstruere Kulsyreudskilningskurven, saa finde vi, at denne nærmer sig til at være en ret Linie, hvis Skæringspunkt med Abscisseaxen ligger omtrent ved + 10°, saaledes at altsaa ingen Kulsyreudskilning skulde finde Sted ved Varmegrader under denne Temperatur. Men at dette ikke kan være rigtigt, fremgaar deraf, at der i hans første og anden Forsøgsrække er iagttaget Kulsyreudskilning ved + 2° og + 3°, altsaa ved meget lavere Varmegrader. — Konstruere vi Kurven for hans første Forsøgsrække med Forsøg ved 20°, 18°, 6° og 2°, saa finde vi, at den danner en ∾-formig bøjet Linie, saaledes krummet, at det Stykke af den, der ligger nærmest ved 20°, vender Konvexiteten, men det Stykke, som ligger nærmest ved 2°, Konkaviteten mod Abscisseaxen, og forlænges dette Stykke indtil Skæring med Abscisseaxen, findes Skæringspunktet liggende, slet ikke i den positive, men i den negative Abscisseaxe, saaledes at altsaa Temperatur-Minimum kommer til at ligge nogle Grader under 0°. De forskjellige Forsøgsrækker synes saaledes at give modsigende Resultater. — Men naar man omregner den tredie Forsøgsrække, saaledes at den kan sammenlignes med den første, derved at man beregner den Kulsyremængde, som det samme Antal Planter vilde give i den samme Tid som i den første Række, saa faar man for 1 Time:

37,4	Mgr.	Kulsyre	ved	20°
72,9	-	—	-	30°
91,1	-	—	-	35°.

I den første Række fandtes ved 20° 39,6 Mgr. Kulsyre, saaledes at altsaa Forsøgsplanterne i de to Forsøgsrækker, skjøndt de ikke vare de samme, dog have været meget lidet forskjellige, hvorfor det da ogsaa er tilladeligt at sætte begge Forsøgsrækker i Forbindelse med hinanden. Hvis Forsøgsplanterne i den tredie Række havde været aldeles identiske med dem i den første Række, saa vilde man have fundet:

39,6	Mrg.	Kulsyre	ved	20°
77,1	-	—	-	30°
96,9	-	—	-	35°.

Konstruerer man nu den hele Kurve mellem 2° og 35°, saaledes som jeg har gjort det paa Tavle 3, Fig. 5, saa faar man en Kurve, hvis Form i det væsentlige stemmer overens med Formen af de af mig for Byg-Kimplanter fundne Kurver. Herved er tillige de tilsyneladende Modsigelser i Rischawis Forsøg løste. Rischawis Kurve synes dog at afvige fra mine Kurver derved, at den begynder med et Stykke, der vender Konkaviteten mod Abscisseaxen, og derpaa forandrer Krumningsretning saaledes, at Konvexiteten vender mod Abscisseaxen, medens mine Kurver under hele deres Forløb gjøre dette. En saadan Krumningsforandring er vel i og for sig ikke umulig, men dog indenfor de nyttige Temperaturers Omraade ikke sandsynlig. Sagen er vistnok simpelt hen den, at nogle af de af Rischawi fundne Tal ikke ere ganske rigtige, og at han enten ved 6° har fundet en for høj, eller ved 2° en for lav Kulsyremængde. Ser man hen til den Kulsyremængde, der i Rischawis anden Forsøgsrække fandtes ved 3°, bliver det sandsynligt, at den Kulsyremængde, han fandt ved 2°, er rigtig, men at Tallet ved 6° er for højt. Men hvad enten nu Tallet ved 6° er for højt, eller Tallet ved 2° for lavt, saa forsvinder baade i det ene og i det andet Tilfælde Krumningsforandringen. Herved vilde da fuldstændig Overensstemmelse være bragt til Veje i Rischawis og mine Undersøgelser.

At saa vel Rischawi selv som ogsaa Mayer have udledet noget andet af disse Undersøgelser og ment, at de viste, at Kulsyreudskilningen var proportional med Temperaturen, kan synes besynderligt, men er dog ret godt forklarligt. De have næppe gjort sig Tallenes Betydning klar ved en grafisk Fremstilling, men have vist nok ladet sig nøje med den af Mayer og Wolkoff sædvanlig anvendte Kvotientmethode, der bestaar deri, at Kulsyremængden divideres med den tilsvarende Temperatur, og af en næsten konstant Kvotient har man saa formentlig sluttet, at man har med en ret Linie at gjøre. De have vist nok kun undersøgt hver Forsøgsrække for sig og ikke taget Hensyn til, at man kun ved at sammenfatte Forsøgene fra den første Række ved 2°, 6°, 18° og 20° med Forsøgene ved 20°, 30° og 35° i den tredie Række kan faa en fuldstændig Forestilling om Kurvens Form. Men herved have de kun set paa de Stykker af Kurven, der ere svagt krummede, medens det disse forbindende, stærkere krummede Stykke er undgaaet deres Opmærksomhed. Paa denne Maade er det forklarligt, at de have kunnet tage fejl af den hele Kurves Form. Dette vilde vel heller ikke være sket, hvis Forsøgene i hver Række havde været anstillede ved Varmegrader, der ligge fjærnere fra hinanden, saa at det ikke

havde været nødvendigt at sammenfatte Forsøgsrækkerne for at erkjende Kurvens Form. Det har vist nok heller ikke været uden Indflydelse paa Mayers Dom, at han og Wolkoff mene at have fundet Proportionalitet mellem Iltoptagelsen og Temperaturen, og det er vel ogsaa herfra, at Mayers tidligere omtalte Mistillid til sine egne Forsøg over Kulsyreudskilningen skriver sig. Formodentlig have Mayers Forsøg over Kulsyreudskilningen været rigtige i det væsentlige, og der var næppe Grund til at holde deres Offentliggjørelse tilbage, saaledes som han har gjort.

Rischawis Forsøg over Temperaturens Indflydelse paa Kulsyreudskilningen hos Kimplanter af Vicia Faba, rettelig forstaaede, og Mayers ikke i deres Detail publicerede Forsøg med Kimplanter af Hvede og mine Forsøg med Kimplanter af Byg synes altsaa alle at stemme overens deri, at indenfor de ved Forsøgene anvendte Varmegraders Omraade er Kurven for Kimplanters Kulsyreudskilning, betragtet som Funktion af Temperaturen, en krum Linie, der er stigende med Abscissen og vender den konvexe Side mod Abscisseaxen.

Efterskrift.

Da den her publicerede Meddelelse kun er Begyndelsen til en større Række Undersøgelser over Planternes Respiration, saa er den at betragte som en foreløbig Meddelelse, der kun paa Grund af ydre Forhold allerede offentliggjøres paa dette Tidspunkt. Derfor har jeg ikke givet og for Øjeblikket heller ikke kunnet give nogen udtømmende Fremstilling af de mange Fejlkilder, som findes ved denne Slags Undersøgelser, der ligesom de tilsvarende i Dyrefysiologien vistnok maa henføres til de mere vanskelige. Enhver Faktor, der har Indflydelse paa Respirationen, kan under visse Omstændigheder optræde som Fejlkilde, og disse Faktorer ere ikke endnu bekjendte.

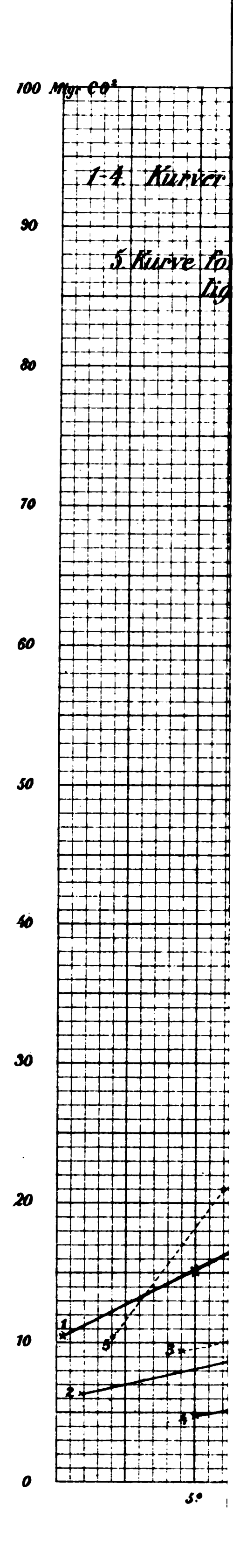
De Fejl, jeg har fremhævet hos mine Forgængere, har jeg, hvad man kan se af det foregaaende, selvfølgelig undgaaet; men jeg skal ikke skjule, at ogsaa mine Undersøgelser lide af visse Mangler. Nogle af disse har jeg allerede været i Stand til at overvinde ved Hjælp af de Forbedringer i Apparat og Methode, hvormed mine fortsatte Forsøg udføres i Universitetets af Hr. Prof. Panum ledede fysiologiske Institut. Saa vidt jeg kan se af mine nye Forsøg, vil det definitive Resultat dog næppe blive væsentligt forskjelligt fra det her meddelte.

IV.

Orienterende Forsøg over forskjellige Æmner.

Foruden de i det foregaaende meddelte Undersøgelser ere en Del foreløbige og orienterende Forsøg og Undersøgelser blevne udførte, hvorover en Fortegnelse her følger:

1. Vandkulturforsøg med Byg.
2. Hvilken Indflydelse har det paa Bygkornenes Spiredygtighed, om de før Spiringen staa under Vand i en kortere eller i en længere Tid?
3. Om Bygkornenes Optagelse af Vand.
4. Om Optagelsen af Ilt ved Byggets Spiring.
5. Renkultur af Mucor Mucedo og M. racemosus; morfologisk-mikroskopiske Undersøgelser af disse Skimmelformer og Gjæringsforsøg med dem.
6. Forsøg med Gjæring af Rønnebær i iltfrit Rum.
7. Om Gjærcellernes Optagelse af Ilt.
8. Om Dannelsen af Ascoporer hos Undergjær.
9. Mikroskopisk Undersøgelse af Gjærformer.
10. Forsøg paa Fremstilling af ren Gjær.


100 Mlgr CO²
1-4. Kurver
5. Kurve fo
Lig
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
2
3
4
5
5°

Undersøgelser

over

sukkerdannende Fermenter.

Af

J. Kjeldahl.

I det her foreliggende Arbejde er der forsøgt en systematisk Undersøgelse af to opløselige Fermenter, navnlig af den i industriel og videnskabelig Henseende saa vigtige Diastase. — Ihvorvel Fermenterne meget ofte have været Gjenstand for Undersøgelse, og der specielt over Diastasen foreligger et overordentlig stort Antal Iagttagelser, synes der dog at være nogen Trang til et saadant Arbejde, da Opmærksomheden tidligere nærmest har været rettet paa de Produkter, der fremkomme ved de omhandlede Processer, medens derimod Undersøgelserne over de Betingelser, der have Indflydelse paa Fermentets Virkning, have været temmelig sparsomme og enkeltstaaende.

Førend jeg gaar over til den experimentale Del, skal jeg fremsætte nogle Bemærkninger om Fermentvirkninger i Almindelighed og dernæst særlig omtale de vigtigste Undersøgelser, der hidtil have været anstillede over Diastasen.

Ved et Ferment forstaas et Stof, som, naar det under passende Betingelser bringes sammen med et vist andet Stof, frembringer en kemisk Omdannelse af dette sidste, saaledes at meget betydelige Mængder blive dekomponerede, uden at Fermentet derved lider nogen kjendelig Forandring. Taget i denne Betydning, vil man altsaa kunne kalde Svovlsyren et Ferment, naar den ved Indvirkning paa Vinaand danner Æther, idet en ringe Mængde Svovlsyre kan over-

føre næsten ubegrændsede Mængder af Vinaand til Æther, uden at Svovlsyren derved forandres. Man maatte ligeledes betragte de forskjellige Syrer som Fermenter, der ved Indvirkning paa Stivelse omdanne denne til Sukker og Dextrin; Syren forbliver uforandret, medens store Mængder af Stivelse blive omdannede, og Virkningen er altsaa i denne Henseende ganske den samme, som frembringes ved Fermentet i Maltudtræk, Diastasen. Det er imidlertid bleven Sprogbrug kun at bruge Betegnelsen »Ferment« om saadanne Stoffer, ved hvilke vi ikke kunne forklare os den Virkning, som de fremkalde. Navnet er for en Del kun en Omskrivning for, at vi ikke kjende noget til Fænomenets Væsen; det forholder sig hermed ligesom med de andre Betegnelser: katalytiske Virkninger, Kontaktvirkninger, som man har givet beslægtede Fænomener. De have kun Betydning for at sammenholde Reaktioner, der have en vis ydre Lighed med hverandre, men hvis sande Aarsager ere os ganske ubekjendte og maaske meget forskjellige indbyrdes. Nu vide vi jo meget god Besked med Processens Gang ved Ætherdannelsen: Svovlsyre og Vinaand danne først Æthersvovlsyre, Æthersvovlsyren danner derpaa med en ny Del Vinaand Æther og Svovlsyre, som derpaa med nye Mængder Vinaand begynder det samme Kredsløb. Derimod ere vi ganske ubekjendte med de kemiske Mellemprocesser, som finde Sted ved fortyndede Syrers Virkning paa Stivelse, og for saavidt kunde vi da gjerne i dette Tilfælde tale om en Fermentvirksomhed. Imidlertid komme vi her til en ny Indskrænkning, som man gjerne gjør, naar man taler om Fermenter, om den end i og for sig er ligesaa uberettiget som den foregaaende; man knytter nemlig dertil nærmest kun Forestillingen om organiske Stoffer, og indenfor disse er der atter kun en begrændset Gruppe af kvælstofholdige Legemer, som staa Æggehvidestofferne nær, men i flere Henseender dog adskille sig fra disse, der ere i Besiddelse af den nævnte mærkelige Evne, af Fermentevne. Med alle disse Forbehold for Øje, maa vi da affatte vor Definition saaledes: Ved Fermenter forstaas visse organiske, kvælstofholdige, med Protëinstofferne beslægtede Stoffer, som have Evne til paa en hidtil uopklaret Maade at kunne fremkalde kemiske Omsætninger af et andet Stof, hvormed de komme i Berøring; smaa Mængder af Ferment kunne omdanne store Mængder af det paagjældende Stof, uden at Fermentet derved synes at lide nogen kjendelig Forandring. Fælles for alle Fermenter er det endelig, at de ved Kogning miste deres Virkeevne for bestandig.

Af saadanne Fermenter kjende vi et ikke ringe Antal. — I forskjellige Plantedele, navnlig i spirende Byg (Malt) og andre

Cerealier findes et Ferment, der lader sig udtrække med Vand og omdanner Stivelse til Sukker og Dextrin. Dette »diastatiske Ferment« (»Maltin« efter Dubrunfaut) spiller en meget stor Rolle i Plantens Ernæring ved at forvandle den uopløselige Stivelse, som findes ophobet i Reservebeholderne, Frøkorn, Knolde, Rødder o. s. v., til opløselige Stoffer, der kunne assimileres af Planten. Fermentet synes da ogsaa at være ganske almindelig udbredt i Planteriget, idet Baranetzky, som har undersøgt et stort Antal Planter derfor, har kunnet paavise Tilstedeværelsen af Diastase i saa godt som alle Tilfælde, og det ikke blot i Frø og Knolde, men ogsaa i Stængel og Blade [1]).

I Spyttet og i Afsondringer fra Tarmkanalen træffe vi flere Fermenter af lignende Art (Ptyalinet eller Spytdiastasen og Pankreasfermentet), der spille en lignende Rolle for Dyr og Mennesker, som Diastasen for Planterne. Disse Fermenter omdanne Stivelse til Sukker og Dextrin og Æggehvidestofferne til de mere opløselige Peptoner; det er kort sagt ved deres Hjælp, at Fordøjelsen af Fødemidlerne finder Sted og Ernæringen gjøres mulig, idet Sukker og Peptoner kunne optages af Blodet, hvad der ikke er Tilfældet med Stivelse og Æggehvidestoffer. Paa samme Maade fordøjer Planten altsaa Stivelsen ved Hjælp af det diastatiske Ferment.

Af Ølgjær kan man ligeledes med Vand udtrække et Ferment, Invertin, »Ferment inversif« (Berthelot), som er uden Virkning paa Stivelse, men derimod ved Indvirkning paa en Rørsukkeropløsning spalter dette i Druesukker og Frugtsukker (Dextrose og Lævulose). Rørsukker kan som saadant ikke assimileres af Planten, hvad der derimod, som tidligere sagt, er Tilfældet med Druesukker. I visse Planter, som Runkelroe og Gulerod, finde vi nu Rørsukker i Roden som Reservenæringsstof. Naar Tiden nærmer sig, da Planten skal benytte sit Forraad, optræder tillige det nævnte Ferment, Invertin, uden hvis Hjælp Planten ikke vilde kunne drage sig Rørsukkeret til Nytte.

I bitre Mandler træffe vi et Ferment, Emulsin eller Synaptase, der ligesom Diastase virker omdannende paa Stivelse, men tillige har Virkning paa en Mængde andre Stoffer, de saakaldte Glykosider, som under Emulsinets Paavirkning under Optagelse af Vand spaltes i to eller flere andre Stoffer, hvoraf det ene altid er Drue-

[1]) Baranetzsky: Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen, 1878, pag. 4—19.

sukker (dog ikke altid ganske identisk med almindeligt Glykose). Et saadant Glykosid finde vi ved Siden af Emulsinet i Mandler, nemlig Amygdalin, som under Fermentets Paavirkning optager Vand og giver Glykose, Bittermandelolie og Blaasyre.

Et Ferment af stor Betydning er Øl- og Vingjæren, ved hvis Hjælp Sukkeret i Ølurten og Vinmosten omdannes til Vinaand og Kulsyre. Beslægtede hermed ere en stor Mængde Fermenter, der fremkalde stundom mindre velkomne Omsætninger, Mælkesyregjær, Smørsyregjær, Eddikesyregjær o. s. v. Endelig slutte sig hertil Forraadnelsesfermenterne, der efter Livets Ophør frembringe den hurtige Opløsning af de døde Legemer og omdanne dem til Stoffer, der paany kunne træde ind i Kredsløbet og tages i Brug af nye Slægter.

Den Rolle, som Fermenterne spille i Naturen, er saaledes overordentlig vigtig; man kunde næstén sige, at enhver Optræden af Liv er knyttet til deres Tilstedeværelse. Men ogsaa for Industrien have Fermenterne stor Betydning, og i faa af dens Grene er dette Tilfældet i højere Grad end i Bryggeri- og Brænderi-Industrien. At underkaste Fermenterne et omhyggeligt Studium, er derfor en Opgave, som i allerhøjeste Grad fortjener at tages op, baade for dens videnskabelige og praktiske Betydning.

De organiske Fermenter dele sig nu i to store Hovedafdelinger, der vel have de i den almindelige Definition fremhævede Karakterer fælles, men forøvrigt ere saa indbyrdes forskjellige, at de maaske ganske med Urette stilles sammen under en fælles Benævnelse. Ved alle de Fermentvirkninger, som vi særlig betegne som Gjæringer, er Virksomheden nemlig knyttet til levende Celleorganismer, hvis Tilstedeværelse og Udvikling i Vædsken er en nødvendig Betingelse for, at Gjæring skal indtræde (ɔ: organiserede Fermenter, formede Fermenter, levende Fermenter). Man har ikke været enig om, hvorvidt Gjæringen skulde betragtes som et umiddelbart Udslag af Cellens Livsvirksomhed, eller om den blev fremkaldt ved et af Cellen afsondret Stof, som vi kun ikke have forstaaet at isolere fra denne. I ethvert Tilfælde maatte et saadant Stof, hvis det fandtes, influeres paa en ejendommelig Maade af Cellens Liv; thi de Gjæringsfænomener, som høre til denne Gruppe, staa i det nøjeste Afhængighedsforhold til de smaa Organismers Livsvirksomhed, saa at enhver Forandring i denne frembringer tilsvarende Forandringer i Gjæringens Intensitet, og med Organismernes Død standser ogsaa Gjæringen.

De opløselige Fermenter (uorganiserede F., uformede F., egentlige F., kemiske F.) stamme som de andre fra levende Celler.

Men de ere virkelige Afsondringsprodukter af disse; de ere opløselige i Vand og kunne derved fjærnes fra Cellerne, hvori de ere dannede; Opløsningen viser de fermentagtige Egenskaber, selv efter at den er filtreret ganske klar og er ganske fri for Celler. Disse Fermenter dannes altsaa vel som en Følge af Vegetationsprocessen, men ved Udøvelsen af deres Virkning er der derimod ikke Tale om nogen Livsvirksomhed; — Processen er af ren kemisk Natur.

Analogierne mellem de to Klasser af Fermenter ere i det Væsentlige udtrykte ved den for begge fælles Definition, som ovenfor er givet. Virkningen, der i Nærheden af 0° i Almindelighed er forsvindende, stiger med Temperaturen til et vist Optimum, for derefter at aftage, naar Varmegraden voxer over dette, og fuldstændigt og blivende at tilintetgjøres, før man naar 100°.

En karakteristisk Egenskab for Fermenterne er, som tidligere fremhævet, den, at de i ringe Mængde kunne fremkalde Dekompositionen af store Mængder af det gjæringsdygtige Stof. Det er imidlertid sikkert, at denne Mængde paa den anden Side ikke er ubegrændset, men at Fermentet under Reaktionen saa at sige bruges op, og at Virkningen som Følge deraf standser paa et vist Punkt, for ikke at begynde igjen, før vi tilføre nye Mængder af Ferment. Dette Forhold er fælles for begge Grupper; lige saavel som en vis Mængde Maltudtræk kun formaar at omdanne en vis Mængde Stivelse, lige saavel kan en bestemt Mængde Gjær kun bringe en bestemt Mængde Sukker i Gjæring. Det er derfor med Urette, at Dumas[1]) søger at begrunde en Adskillelse mellem de to Klasser af Fermenter paa deres Forhold i den her omtalte Henseende. Han siger:

> »Il y a deux classes de ferments: les uns, dont la levûre de bière représente le type, se perpétuent et se renouvellent quand le liquide où s'opère la fermentation leur offre l'aliment dont ils ont besoin; les autres, qui ont pour type la diastase, se détruisent toujours quand ils exercent leur action«.

Han sammenligner aabenbart ikke her Gjæren og Diastasen under lige Forhold. Naar man ved Tilsætning af Næringsstoffer til Vædsken sætter Gjæren istand til at formere sig, saa tiltager ganske vist Fermentet i Mængde, medens det udøver sin Virkning. Men paa lignende Maade voxer jo ogsaa Diastasemængden i

---

[1]) Compt. rend., tome 75, séance du 5 août 1872, pag. 277, citeret af Pasteur i »Études sur la bière«, pag. 311.

spirende Korn, trods at dette Ferment ogsaa er i bestandig Virksomhed under Spiringsprocessen. Naar begge Fermenter ere afskaarne fra Tilvæxt, Gjæren i en for den ikke nærende Vædske (ren Sukkeropløsning), Diastasen skilt fra den levende Celle, hvori den frembringes, ville de begge bruges op under Udøvelsen af deres Virksomhed.

Ved saa væsentlige Lighedspunkter ligger den Betragtning nær, at de to Klasser af Fermenter vel maatte være til en vis Grad ensartede. Til Støtte herfor er det af stor Betydning, at vi ved Arbejder af Musculus[1]) og Pasteur & Joubert[2]) virkelig have faaet et Exempel fra de vitale Gjæringsprocessers Gruppe paa, at det er muligt, ud af den ved Gjæringen virksomme Celle at fremstille et opløseligt Ferment, der frembringer den samme Virkning, som den levende Celle. Det er Urinens Gjæring, der her sigtes til; ved Henstand i fri Luft bliver denne som bekjendt alkalisk, idet Urinstoffet omdannes til kulsur Ammoniak. Ved denne Gjæring optræder altid en lille Torulaform, og naar man træffer Foranstaltninger til at holde denne borte, indtræder Gjæringen ikke heller. Man maatte derfor betragte denne Proces som en med Alkoholgjæringen analog. Nu viste imidlertid Musculus, at man af alkalisk Urin med Vinaand kunde fælde et opløseligt Ferment, som forandrer Urinstof til kulsur Ammoniak. Pasteur og Joubert bekræftede dette, men viste tillige Rigtigheden af Van Tieghem's Iagttagelser, at Tilstedeværelsen og Udviklingen af den før omtalte lille Organisme er en nødvendig Betingelse for Gjæringen; det viste sig nu, at det netop var denne Organisme, der frembragte det opløselige Ferment. Vi have altsaa her et Exempel paa en Gjæring, som fremkaldes af en Organisme, og som foregaar med Produktionen af et kemisk Ferment som Mellemled.

Ved denne betydningsfulde Iagttagelse have ialfald de, der ville forklare Gjæringen efter »Fermenttheorien«, vundet et Støttepunkt, idet den jo virkelig har vist sig rigtig for dette Tilfælde. Hvorvidt Analogien vil kunne føres videre til andre Gjæringsprocesser, navnlig til den vigtigste af dem, den vinaandige, maa dog anses for meget tvivlsomt. Der bestaar i Virkeligheden meget dybtgaaende Forskjelligheder mellem de to Arter af Fermenter, Forskjelligheder, der, som Pasteur siger, træde skarpere og skarpere frem, jo mere indgaaende Undersøgelserne derover blive. Mange Stoffer,

---

[1]) Compt. rend., tome 82, séance du 31 janvier 1876, pag. 333.
[2]) Ibid., tome 83, séance du 3 juillet 1876, pag. 5.

som standse den diastatiske Virkning, have ingen Indflydelse paa Gjær; saadanne ere navnlig fortyndede Syrer, ogsaa Borax (Dumas) o. fl. Omvendt have de saakaldte antiseptiske Stoffer, der allerede i ringe Doser virke dræbende paa Gjæren, kun en svag Forstyrrelse af Diastasen til Følge; saaledes Karbolsyre, Kloroform (Müntz) o. s. v. Stærkt Tryk standser Gjæringen, idet den fortættede Ilt dræber Organismerne; paa de kemiske Fermenter er Trykket derimod uden Indflydelse (Paul Bert).

Nägeli fremhæver[1]) meget træffende en Forskjel mellem Virkningen af de organiserede og ikke organiserede Fermenter. Ved de sidste, siger han, blive altid de paavirkede Stoffer overførte til andre, der have større Næringsværdi, Rørsukker til Invertsukker, Æggehvidestoffer til Peptoner, neutrale Fedtstoffer til frie Fedtsyrer, o. s. v. Ved de vitale Fermenter bliver derimod altid det gjærende Stof forringet med Hensyn til sin Næringsværdi, Sukker bliver til Vinaand og Kulsyre, eller til Mælkesyre o. lgn., Peptonerne blive til Leucin, Tyrosin, o. s. v.

En anden, endnu væsentligere Forskjel, som Nägeli[2]) idetmindste i enkelte af de bedst studerede Tilfælde mener at kunne paavise mellem Virkningen at de to Klasser af Fermenter, er følgende: Ved de Spaltninger, som de kemiske Fermenter frembringe, skal der nemlig bindes Varme, medens der ved de organiserede Fermenters Virksomhed, ved de egentlige Gjæringsprocesser, finder Varmeudvikling Sted. Der sker altsaa i første Tilfælde en Forøgelse, i sidste en Formindskelse, af den potentielle Energi. Det første er nu rigtignok kun nogenlunde sikkert for et af de opløselige Fermenter, nemlig for Invertinet, der omdanner Rørsukker til Invertsukker. Nägeli's Beregning herover støtter sig til en Undersøgelse af Frankland, der viser, at Rørsukker udvikler en mindre Forbrændingsvarme, end den Mængde Invertsukker, som det frembringer ved sin Spaltning; ligeledes viser han, at Molekularrumfanget forøges ved den nævnte Spaltning, hvorved der maa bindes Varme. At der ved Gjæringsprocesserne bliver Varme fri, er et fra den vinaandige Gjæring bekjendt Faktum.

Medens man i Almindelighed ved fortyndede Syrer o. desl. kan frembringe de samme Spaltninger som ved de opløselige Fermenter (jvfr. Rørsukkerets Omdannelse til Invertsukker, Stivelsens til Maltose og Dextrin, Glykosidernes til Glykose og andre Stoffer),

---

[1]) C. v. Nägeli: Theorie der Gärung, 1879, pag. 14.
[2]) Ibid., pag 51 og flg.

er det idetmindste for de typiske vitale Gjæringers Vedkommende (f. Ex. den vinaandige Gjæring) hidtil ikke lykkedes at efterligne Fermentets Virkninger ved almindelige kemiske Midler[1])

Nägeli kommer derefter til den Anskuelse, at de egentlige Gjæringer skyldes en Overførelse af Molekularsvingningerne i den levende Celles Plasma paa Molekylerne af det gjæringsdygtige Stof, hvorved Ligevægten mellem disse forstyrres, og Spaltningen indtræder. Gjæringen skulde derefter være uadskillelig knyttet til det levende Plasma, altsaa være et umiddelbart Udslag af Cellens Livsvirksomhed. Mærkelig nok omtaler han i sin her oftere citerede Bog aldeles ikke de ovenfor berørte Forhold ved Uringjæringen, der ikke synes at stemme med hans Theori.

I Bryggeriprocessen spille, som sagt, Fermenterne en særlig vigtig Rolle, og vi have netop her et Exempel paa, hvorledes Fermenter af begge Klasser benyttes i Industriens Tjeneste. Ved Ølfabrikationen maa man jo, som bekjendt, skjelne mellem tvende Hovedoperationer; den første gaar ud paa at fremstille en sukker- og dextrinholdig Vædske (Urt) af stivelseholdige Materialer (Malt); ved den anden søger man at omdanne en Del af Urtens Sukker til Vinaand og Kulsyre. Til at udføre den første af de her nævnte Omdannelser benytte vi os af et opløseligt Ferment, Diastasen, som findes i Maltet; den sidste udføres af et organiseret Ferment, nemlig Ølgjæren. Hele denne Industri er altsaa baseret paa Fermenternes Virkning, og en nøjere Undersøgelse af disse synes derfor, bortset fra den almindelige videnskabelige Interesse, at være det Arbejde, som fremfor andre er af Vigtighed for Carlsberg Laboratoriet og dettes specielle Formaal.

Den mærkelige Reaktion, der foregaar, naar Maltudtræk indvirker paa Stivelseklister, har allerede længe tiltrukket sig Kemikernes Opmærksomhed. Der har, for at bringe Klarhed i den derved stedfindende Proces, været udført et stort Antal Arbejder, der dog tilsyneladende næsten have bidraget til at gjøre Spørgsmaalet endnu mere kompliceret, idet de af forskjellige Undersøgere erholdte Resultater ofte stode i den stærkeste Modstrid til hverandre. Hovedresultaterne, som de mest indgaaende Undersøgelser paa dette

[1]) C. v. Nägeli: Theorie der Gärung, 1879, pag. 16.

Omraade have givet, ere blevne saa særdeles hyppigt citerede, at man næppe vil søge forgjæves efter et Resumé af dem i nogen Bog fra den nyere Tid, der omhandler beslægtede Emner. Jeg skal derfor ikke her komme med nogen udførlig Udvikling af denne Sags Historie, men finder det dog nødvendigt at give et kort Resumé af dem blandt disse Undersøgelser, som jeg i det Følgende vil faa Lejlighed til at sammenligne med mine egne Forsøg.

Musculus[1]) antog tidligere, at Stivelsemolekylet under Indvirkning af Fermentet spaltedes i 1 Molekyle Druesukker og 2 Molekyler Dextrin. Dextrin skulde efter hans Mening ikke yderligere paavirkes af Diastase. Jodreaktionens Ophør var Tegnet til, at Spaltningen var fuldbyrdet, og da Sukkeret kun skulde fremkomme ved denne Spaltning, vilde man ikke heller iagttage nogen Forøgelse af Sukkermængden, naar Jod ikke længer frembragte nogen Farvning af Vædsken. Payen[2]) fastholder derimod, at Dextrin ogsaa paavirkes af Diastase og omdannes til Sukker; han anser Processen, ikke for en Spaltning af Stivelsen, men for en gradvis Omdannelse af samme, hvorved der først opstaar Dextrin, og derpaa af dette Sukker. Medens Sukkermængden efter den af Musculus opstillede Ligning kun skulde kunne blive 37 %, fandt Payen ved flere Forsøg over 50 %. At Sukkerdannelsen efterhaanden gaar istaa, længe før man naar til en Mængde, der svarer til al den anvendte Stivelse, skyldes ifølge Payen en hæmmende Indflydelse, som det allerede dannede Sukker har paa Omdannelsen af Resten af Dextrinet; naar Sukkeret fjærnes, f. Ex. ved den vinaandige Gjæring, kan en vis Mængde Dextrin paany omdannes.

Schwarzer[3]) gjør først opmærksom paa den Indflydelse, som Temperaturen, ved hvilken Reaktionen finder Sted, har paa Mængdeforholdet mellem Sukkeret og Dextrinet. Ved Temperaturer under 60—65° finder man 50—53 % Glykose, ved 70° derimod kun 27 %, fra 65—70° variere Mængderne fra 53—27 %. Han stemmer overens med Musculus i den Antagelse, at Sukkerdannelsen væsentlig er forbi med Jodreaktionens Ophør. Derimod er han enig med Payen i, at Dextrin paavirkes af Diastase, og stemmer ogsaa nærmest overens med ham i hans Betragtning af Reaktionen som en gradvis Omdannelse.

---

1) Annales de Chimie & de Physique, 1860, pag. 203, og Compt. rend., 1862, tome 54, pag. 194.

2) Compt. rend., 1861, tome 53, pag. 1217, og Annales de Chimie & de Physique, 1865, pag. 286.

3) Journal für practische Chemie, Neue Folge, Bd. I, 1870, pag. 212.

Medens man tidligere kun havde talt om ét Mellemled mellem Stivelse og Sukker, gjør Bondonneau[1]) opmærksom paa, at der optræder flere Mellemprodukter, eller flere Dextriner, der adskille sig fra hverandre ved den Maade, hvorpaa de farves af Jod, endvidere ved forskjellig Drejningsevne og Opløselighedsforhold. Han opstiller 3 saadanne forskjellige Stoffer;

α - Dextrin, som giver rød Farve med Jod og fældes af Vinaand.

β - Dextrin, som ikke farves af Jod, men fældes af Vinaand.

γ - Dextrin, som hverken farves af Jod eller fældes af Vinaand, men adskiller sig fra Sukker ved ikke at reducere Fehlings Vædske.

Drejningsevnen for disse tre Stoffer angiver Bondonneau til:

α - Dextrin . . . $(\alpha)_D = 186^0$.
β - Dextrin . . . » $= 176^0$.
γ - Dextrin . . . » $= 164^0$.
(For opløselig Stivelse finder han $(\alpha)_D = 216^0$).

Angaaende deres øvrige Egenskaber angiver han følgende: Ved Afkøling til henimod 0^0 af de stærkt koncentrerede Opløsninger ($24-25^0$ Baumé) af α- og β-Dextrin dannes paa Karrets Bund en mælket Afsætning, der ved højere Temperatur atter opløses. α-Dextrin forvandles ved Diastase allerede i Kulden hurtigt og i Varmen næsten øjeblikkeligt til β-Dextrin; dette paavirkes ikke af Diastase i Kulden, i Varmen omdannes det efterhaanden til Sukker og γ-Dextrin, dog aldrig fuldstændigt. γ-Dextrin kunde Bondonneau ikke fremstille isoleret; i Virkeligheden existerer dette Stof heller ikke. Bondonneau blev ledet til at antage Tilstedeværelsen deraf ved den Omstændighed, at Opløsningen ved Siden af Sukkeret syntes at indeholde et Stof, der ligesom Glykoset var opløseligt i Vinaand og gjæringsdygtigt, men stemmede overens med Dextrin deri, at det ikke reducerede Fehlings Vædske og ved Kogning gik over til Glykose. Disse Iagttagelser ere vel fuldkommen rigtige, men efter at man havde fundet, at det ved Diastasen dannede Sukker var forskjelligt fra Glykose, forklares det ovennævnte Forhold let ved denne Sukkerarts ejendommelige Egenskaber (jvfr. pag. 118).

---

[1]) Compt. rend., tome 81, séance du 22 october 1875, pag. 972, og Ibid., séance du 13 décembre 1875, pag. 1210.

Musculus og Gruber[1]) have anstillet lignende Undersøgelser over de forskjellige Dextriner, som optræde ved Indvirkningen af Diastase paa Stivelse. Foruden det rødfarvende Dextrin, Erythrodextrin (Bondonneau's α-Dextrin) angive Forff. 3 (4) Dextrinarter, som ikke give nogen Farve med Jod, Achroodextrin α, β og γ. Ved at afbryde Processen umiddelbart efter Jodreaktionens Forsvinden, skulde man faa Achroodextrin α, medens en længere Digestion med større Mængder af Diastase giver Achroodextrin β. Endelig have Forff. fortsat Digestionen af Stivelse med Diastase gjennem et helt Aar (Vædsken var ved Tilsætning af Vinaand beskyttet mod Forraadnelse), idet der fra Tid til anden blev tilsat nye Portioner Diastase, og ville de paa denne Maade foruden Sukkeret endnu have faaet et Achroodextrin γ. De tre Achroodextriner ere alle opløselige i Vinaand og ikke gjæringsdygtige. Drejningsevnen og Reduktionsevnen for alkaliske Kobberopløsninger (Druesukkerets Reduktionsevne sat = 100) ere følgende:

Achroodextrin	α . . .	$(\alpha)_D = 190^0$;	R = 12,
—	β . . .	- $= 172^0$;	- = 12,
—	γ . . .	- $= 136^0$;	- = 28,

samt for opløselig Stivelse $(\alpha)_D = 197^0$; R = 6.

Disse Dextriner ere altsaa vel ikke identiske med Bondonneaus, men dog meget nærstaaende. Forff. ere ved deres Undersøgelser blevne ledede til at betragte Stivelsen som et »Polysaccharid« af Formlen n (C^{12} H^{20} O^{10}), hvor n ikke er nærmere bekjendt, men ialfald ikke lavere end 5 eller 6. Det, som finder Sted ved Indvirkning af Diastase herpaa, skulde da være en Række Spaltninger (dédoublements) af Molekylet i Forbindelse med Optagelse af Vand (hydratation). Først dannes der herved Erythrodextrin og Maltose (se nedenfor), dernæst spaltes Erythrodextrin i et Dextrin af lavere Molekularvægt og Maltose, o. s. v., indtil vi naa Achroodextrin γ, der formentlig gaar over til Maltose ved simpel Hydratation.

Særdeles vigtige Bidrag til Belysning af de herhen hørende Spørgsmaal har den engelske Chemiker O'Sullivan leveret[2]). Jeg har besørget et Uddrag af dem oversat paa Dansk, som findes i »Tidsskrift for Physik og Chemi, 1879, 6—7de Hefte« p. 161.

---

[1]) Compt. rend., tome 86, séance du 10 juin 1878, pag. 1459.
[2]) Journal of the Chemical Society, Vol XXV, 1872, pag. 579.
Ibid., Vol. XXIX, 1876, pag. 478.
Ibid., Vol XXX, 1876, p. 125.

O'Sullivans Arbejder gaa tildels flere Aar tilbage i Tiden; selv det sidste af de her citerede er fra 1876 og saaledes ældre end det ovenfor omtalte af Musculus og Gruber (1878); da imidlertid dette sidste Arbejde slutter sig saa nær til Bondonneaus, ere disse to omtalte i Fortsættelse af hinanden. Med Hensyn til en udførligere Fremstilling af O'Sullivans Arbejder maa jeg henvise til det ovenfor omtalte Uddrag eller til de ved Foden citerede Originalafhandlinger. Dog kan jeg ikke undlade, ogsaa her at omtale nogle af hans vigtigste Resultater, til hvilke jeg i mit efterfølgende Arbejde meget ofte vil komme tilbage.

O'Sullivan drager den allerede af Dubrunfaut 1846 gjorte Iagttagelse frem, at den Sukkerart, der dannes af Stivelse ved Diastase, ikke er Glykose, men Maltose, som har ganske andre Egenskaber, navnlig lavere Reduktionsevne (R = 65—66) og en meget højere Drejningsevne ($(\alpha)_D = 136^0$). I den ovenfor omtalte Afhandling af Musculus og Gruber mene dog disse at have bevist, at der tillige dannes en ringe Mængde Glykose, nemlig ca. 1 % af Stivelsen, hvad der dog synes mindre væsentligt.

Dextrin renser O'Sullivan for Sukker ved en forenet Anvendelse af Gjæring og gjentagne Fældninger med Vinaand og erholder derved i alle Tilfælde et Produkt, der saa godt som ikke reducerer Fehlings Vædske (R = $0{,}8$—$2{,}2$), ikke er gjæringsdygtigt og har Drejningsevnen $(\alpha)j = 214^0$ eller $(\alpha)_D = 193^0$, og det, hvad enten Dextrinet var fremstillet ved Behandling med Syrer eller med Maltudtræk, og hvad enten Processen blev standset, medens Jod endnu frembragte en rød eller brun Farve i Vædsken, eller blev ført igjennem indtil Jodreaktionens Ophør. Heraf slutter da O'Sullivan, at disse Hovedegenskaber: Mangel paa Reduktionsevne og Evne til at gaa i vinaandig Gjæring, samt en Drejningsevne $(\alpha)j = 214^0$, ($(\alpha)_D = 193^0$) ere fælles for alle Dextrinarterne; ligeledes fældes de alle af Vinaand. Naar man erindrer, at Maltose er fuldstændig gjæringsdygtigt, kun reducerer $^2/_3$ saameget CuO som Glykose, men ved Kogning med Syre omdannes hertil, vil man let forstaa, hvorledes man før Opdagelsen af denne Sukkerart kunde betragte den som et γ-Dextrin ved Siden af Druesukker. Bondonneaus α- og β-Dextrin, som ere fremstillede ved Ophedning af Stivelse, erklærer O'Sullivan for at indeholde forskjellige, optisk uvirksomme Brandprodukter, hvad der er Grunden til, at der findes saa lave Værdier for Drejningsevnen[1]). Efter O,Sullivan

[1]) Naar plansat Lys passerer en Opløsning, som indeholder Sukker og Dextrin (eller et andet »optisk aktivt« Stof), lider Svingningsplanen som bekjendt en Drejning, hvis Størrelse afhænger af Sukkerartens

er for Maltose Reduktionsevnen = 65, Drejningsevnen $(\alpha)_D$ = 136°; for Dextrin er, som ovenfor nævnt, disse to Konstanter R = O, $(\alpha)_D$ = 193°. Naar man nu i en Opløsning af bekjendt Styrke bestemmer baade Reduktionen og Drejningsevnen,

---

Natur, men for et bestemt Stof er proportional med Vædskelagets Tykkelse, som Lyset passerer, og med Opløsningens Styrke (naar denne udtrykkes i Volumenprocent, Grm. i 100 Kub. Cent.); den sidste Lov gjælder dog kun tilnærmelsesvis. Den Drejning, vi vilde faa, ved at anvende en Opløsning, som paa 100 Kub. Cent. indeholdt 100 Grm. Stof og iagttoges i et 100^{mm} langt Rør, kaldes den specifiske Drejningsevne for vedkommende Stof. Den samme finde vi paa det nærmeste ved at iagttage en Opløsning paa 10 Volumenprocent gjennem et Rør paa 1000^{mm}. Den specifiske Drejningsevne betegnes gjerne med (α), men da de forskjellige Farvestraaler lide ulige Drejning, maa man tilføje, hvilken Straale der er Tale om. Efter Biot benyttede man tidligere gjerne Drejningen for det mellemste Gule og betegnede denne med $(\alpha)j$ (jaune moyen); nu er det almindeligt at angive Dreiningen for den Fraunhoferske Linie D (Natrium-Linien), der da betegnes $(\alpha)_D$. Ved det Wild'ske Polaristrobometer og det nyeste Halvskygge-Polarimeter, der synes at vinde saa almindelig Udbredelse, arbejdes der med Natrium-Lys, og man aflæser som oftest Drejningen i almindelige Grader. Man behøver da blot, for at finde $(\alpha)_D$, at dividere den aflæste Drejning med Opløsningens Styrke (i Volumenprocent), hvis man har brugt et Iagttagelsesrør paa 100^{mm}; har man taget et Rør paa 200^{mm}, maa man naturligvis endnu dividere med 2. Ved de ældre Apparater efter Soleil eller Soleil-Ventzke benytter man hvidt Lys, og Drejningen aflæses i Grader Soleil eller Grader Soleil-Ventzke. Vil man beregne den specifiske Drejningsevne, maa man derfor først overføre disse arbitraire Grader til almindeligt Vinkelmaal (1° Soleil = $0{,}2172°$, 1° Soleil-Ventzke = $0{,}3460°$).

Den specifiske Drejningsevne er for:

	$(\alpha)_D$	$(\alpha)j$
Rørsukker	66,6	73,8
Druesukker (vandfrit) .	53	58,7
Maltose (—) .	136	150
Dextrin	193	214

Drejningen er, som sagt, ikke ganske proportional med Procentstyrken, saa at man ikke kan slutte med Bestemthed fra en 10% Opløsning til den 100% Opløsning, hvortil den spec. Drejningsevne refererer sig, men som man naturligvis aldrig kan iagttage direkte. Saaledes aftager ved Rørsukker den spec. Drejningsevne svagt, naar Opløsningen bliver stærkere; $(\alpha)_D$, der for 10% Opløsninger er 66,6°, er saaledes for 50% kun 66,2° (Tollens). Ved Druesukker voxer omvendt $(\alpha)_D$ med Koncentrationen. Efter Tollens Forslag burde man derfor til Angivelsen af den spec. Drejningsevne

kan man ved Hjælp af hver enkelt af disse Størrelser bestemme Mængden af Maltose og Dextrin. O'Sullivan har i alle sine Analyser benyttet denne dobbelte Bestemmelse, og det er netop dette, der synes mig at give hans Undersøgelser en særlig overbevisende Betydning, idet han altid paa det nærmeste har fundet samme Værdier for Maltose- og Dextrinmængderne, hvad enten han beregnede dem af Opløsningernes Reduktionsevne eller af deres optiske Forhold.

Hvad Sukkerdannelsens Omfang angaar, da gjør O'Sullivan opmærksom paa, at man her maa tage Hensyn til 2 Faktorer, nemlig Reaktionens Varighed og Temperaturen, ved hvilken den finder Sted. Ved alle Temperaturer under 63° vil man, naar Stivelseklister opløses ved tilstrækkeligt Maltudtræk, og Vædsken strax efter, at Opløsningen har fundet Sted (ɔ: efter faa Minutters Forløb), afkøles og undersøges, altid finde, at der er dannet 67,8 % Maltose og 32,2 % Dextrin. Paa samme Maade skulde der i Temperaturintervallet 64—68 à 70° altid strax efter Opløsning været dannet 34,5 % Maltose og 65,5 % Dextrin, og ved Temperaturer over 70° skulde man faa 17,4 % Maltose og 82,6 % Dextrin. Disse tre Blandinger af Maltose og Dextrin have følgende Reduktions- og Drejningsevner:

67,8 M + 32,2 D. — R = 44 ; $(\alpha)_D = 154{,}2°$.
34,5 - + 65,5 -. — - = 22,4; - $= 173{,}4°$.
17,4 - + 82,6 -. — - = 11,3; - $= 183{,}3°$.

I Betragtning af den Hurtighed, hvormed Reaktionen indtræder, antager O'Sullivan Processen for at være, ikke en gradvis Omdannelse, men en Spaltning, og han finder, at de ovenfor fundne Mængdeforhold svare paa det nærmeste til nedenstaaende Ligninger:

Under 63° — $C^{18}H^{30}O^{15} + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + C^6H^{10}O^5$; (1)
64°-68 à 70° — $2(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 4(C^6H^{10}O^5)$; (2)
Over 70° — $4(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 10(C^6H^{10}O^5)$; (3)

Naar Digestionen imidlertid fortsættes i længere Tid, og navnlig naar der er et stort Overskud af Diastase, vil dette ogsaa bevirke

---

føje, hvilken Styrke af Opløsning den gjælder for; saaledes skulde man for Rørsukker skrive $(\alpha)^{10}_D = 66{,}6°$, $(\alpha)^{50}_D = 66{,}2°$, $(\alpha)^{75}_D = 65{,}8°$ o. s. v., for Druesukker $(\alpha)^{10}_D = 53°$, $(\alpha)^{20}_D = 53{,}3°$, $(\alpha)^{40}_D = 54{,}1°$, $(\alpha)^{117}_D = 57{,}8°$ (Tollens). For Maltose og Dextrin har man endnu ingen Undersøgelser i denne Retning.

en langsom Omdannelse af Dextrinet til Maltose under Optagelse af Vand. Han holder altsaa disse to Dele af Processen skarpt ud fra hinanden: den næsten øjeblikkelige Spaltning af Stivelsen i Maltose og Dextrin, som finder Sted efter en af de ovenstaaende Ligninger, og den langsomme Hydratation af Dextrinet, hvorved saa godt som den hele Mængde heraf kan overføres til Maltose.

I den nyere Tid er der udkommen 2de Afhandlinger over det diastatiske Ferment og dets Virkning paa Stivelse, nemlig Baranetzsky: »Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen«, og Krauch: »Verbreitung diastatischer Fermente im Pflanzenreiche«, 1879. Den sidste af disse Afhandlinger er ikke kommen mig ihænde inden Afslutningen af dette Arbejde; en af Baranetzskys vigtigste Iagttagelser har jeg allerede omtalt (pag. 109), ligesom jeg ogsaa senere vil komme tilbage til dette interessante Arbejde.

Undersøgelser over Diastase.

O'Sullivan siger, at Stivelsen spaltes ligefrem i Maltose og Dextrin. Dette kan dog ikke ganske forholde sig saaledes, da der i ethvert Tilfælde først maa dannes opløselig Stivelse; O'Sullivan taler ogsaa om α-Dextrin, men synes ikke at tillægge dette Stof nogen videre Betydning. De meget paafaldende Resultater, som hans Forsøg havde givet, opfordrede i høj Grad til at gjentage dem; jeg har da ogsaa allerede for længere Tid siden gjort flere Forsøg i denne Retning og er derved kommen til den Anskuelse, at det er rigtigt, at man under 63° faar ca. 68 % Maltose, svarende til en Reduktion af 45, medens jeg derimod ved højere liggende Temperaturer aldrig kunde faa Resultater, der vare i tilstrækkelig Overensstemmelse med O'Sullivans Ligninger (2) og (3).

Et andet Spørgsmaal, som paatrænger sig ved Læsningen af O'Sullivans Arbejde, er dette: han taler bestandig om, hvorledes Udfaldet bliver, naar man anvender »tilstrækkeligt« Maltudtræk; men, naar man nu tager »utilstrækkeligt« Maltudtræk, hvorledes stiller Forholdet sig da? Er Processen en Spaltning af Stivelsen, eller vel rettere af den opløselige Stivelse, i Maltose og Dextrin, maatte vel Forholdet blive dette, at en Del af Stivelsen forblev ganske uforandret, medens en anden Del blev fuldstændig omdannet. Naar derimod Stivelsen blev gradvis omdannet til Maltose gjennem de forskjellige Dextriner som Mellemled, kunde man tænke sig, at man, ved at bringe Stivelse i Opløsning med en

ringe Mængde Diastase, vilde faa en Vædske, der kun indeholdt Dextrin, men intet Sukker. Der syntes mig altsaa at være Grund nok til at gjenoptage disse Spørgsmaal, hvor hyppigt de end have været debatterede.

Planen for de efterfølgende Undersøgelser er meget simpel og synes at maatte kunne anvendes med Held til Undersøgelse af flere beslægtede Fermenter. Naar Diastase (Maltudtræk) indvirker paa Stivelseklister, og forøvrigt ingen fremmede Stoffer ere tilstede, kunne følgende 4 Faktorer have Indflydelse paa Resultatet:

1. Mængden af det tilsatte Maltudtræk,
2. Temperaturen, hvorunder det virker,
3. Tiden, hvori det virker,
4. Opløsningens Koncentration.

For at erfare Indflydelsen af en enkelt af disse Faktorer, maa man lade denne variere, medens de tre andre forblive uforandrede; for saaledes at erfare, i hvilket Forhold Reaktionens Omfang staar til den anvendte Mængde af Diastase, maa man lade forskjellige Mængder af Maltudtræk indvirke lige længe og ved samme Temperatur paa lige store Mængder Stivelseklister, altsaa lade 1 variere, medens 2, 3 og 4 blive konstante. Naar man paa denne Maade er kommen til Kundskab om, hvilken Indflydelse Diastase-Mængden, Temperaturen, Tiden og Koncentrationen hver for sig udøve, vil det være let, ved at kombinere de fundne Resultater, at forudsige Maltudtræks Indvirkning paa Stivelse i ethvert Tilfælde, som kan indtræffe. Andre Fermenter, der have en lignende Virkning paa Stivelse som Diastase, kunne underkastes en lignende Undersøgelse; saaledes Ptyalinet (Spyt-Diastasen), Pankreasfermentet og Emulsinet. En Betingelse for at kunne anstille en saadan Undersøgelse er, at der blandt Hovedprodukterne af Fermentvirkningen findes et, som let lader sig bestemme kvantitativt. Et saadant have vi, naar Diastase eller et andet af de ovennævnte Fermenter virker paa Stivelse, i det herved frembragte Sukker (Maltose). Invertin, Ølgjærens Rørsukker-spaltende Ferment, vilde ligeledes kunne lade sig undersøge ad denne Vej, idet vi med Polarimetret ere istand til nøjagtig at bestemme Mængden af det ved Reaktionen dannede Invertsukker.

Til en aldeles fuldstændig Undersøgelse af denne Art vilde der kræves en kvantitativ Bestemmelse af samtlige ved Fermentets Indvirkning dannede Produkter. Ved Stivelsens Omdannelse skulde man altsaa bestemme ikke blot Sukkeret, men tillige de forskjellige Dextriner, der herved optræde. En slig Bestemmelse er naturligvis ikke mulig at foretage; naar vi her tale om en Undersøgelse af

det diastatiske Ferment, saa er det egentlig kun en Undersøgelse af Diastasens sukkerdannende Evne. Ved dette Ferments Indvirkning paa Stivelse er Sukkeret imidlertid det overvejende vigtigste Produkt; tilmed er Slutningsresultatet her en næsten fuldstændig Omdannelse til Sukker, saa at de forskjellige Dextrinarter nærmest optræde som Mellemprodukter. Vi kunne derfor ret vel nøjes med en Sukkerbestemmelse, naar det gjælder om en Undersøgelse af Diastasens Indvirkning paa Stivelse. En anden Sag er det, at et og samme Ferment, saavidt det synes, kan have Indvirkning paa ganske forskjellige Stoffer og derved fremkalde ganske forskjellige Omsætninger. Saaledes er det af Gorup-Besanez paavist, at Diastasen ikke blot formaar at omdanne Stivelse til Sukker og Dextrin, men tillige Æggehvidestoffer til Peptoner. Det er klart, at vi næppe kunne slutte noget fra en Undersøgelse over Diastasens Virkning paa Stivelse til dens Virkning paa Æggehvidestofferne, men at der dertil fordres en ganske selvstændig Undersøgelse. Lignende Forhold træffe vi hos flere Fordøjelsesfermenter, der have Indvirkning paa Fødemidler af meget forskjellig kemisk Natur. Pankreasfermentet virker saaledes baade paa Stivelse, paa Æggehvidestoffer og paa Fedtstoffer; de sidste bringer det i en emulsionsagtig Tilstand og spalter dem dernæst i Glycerin og frie Fedtsyrer. Disse Virkninger maatte undersøges hver for sig; det er ingenlunde givet, at den Temperatur, der er heldigst for Stivelsens Omdannelse, ogsaa skulde være det for Fedtstoffernes. Om der forøvrigt virkelig findes Fermenter med saadan flersidig Virkning, eller om denne skyldes to eller flere med hverandre blandede Fermenter, som vi ikke have fundet Midler til at skille ad, maa staa hen indtil videre.

Ved de følgende Undersøgelser over Diastase er det altsaa bestandig den dannede Mængde Sukker, som er bleven bestemt. Dette er altid sket ved en Bestemmelse af Opløsningens reducerende Virkning paa Fehlings Vædske. Analyserne beregnedes som Druesukker; dette er i det Følgende dels angivet i Volumenprocent af Opløsningen (Gram i 100 Kub. Centimeter), dels i Vægtprocent af Opløsningens Tørstof, hvor da Mængden af dette først maatte bestemmes (jvfr. pag. 131). Det er dog ikke korrekt, at kalde disse Procenttal for »Sukkermængden«, henholdsvis i Opløsningen og i Tørstoffet; det bør hedde henholdsvis Opløsningens og Tørstoffets »Reduktionsevne«. Det er jo nemlig almindeligt at vælge Druesukkerets Reduktionsevne til Enhed, idet denne sættes = 100, eller, med andre Ord, at beregne alle reducerende Sukkerarter som Druesukker; men det maa ikke glemmes, at den ved Diastasen dannede Sukkerart er Maltose, som har en anden og ringere Reduk-

9

tionsevne (66), saa at den sande Sukkermængde bliver paa det nærmeste halvanden Gang saa stor, som naar den beregnes som Druesukker. Naar der f. Ex. i det Følgende tales om 10% Sukker eller en Reduktionsevne = 10, saa betyder dette i Virkeligheden 15% Maltose. Jeg skal senere fremføre de Grunde, der have bevæget mig til at bibeholde den ældre Beregningsmaade (jvfr. pag. 131); det vil dog hyppigt blive nævnt, hvormeget Maltose der svarer til de anførte Tal for Reduktionen, for at vedligeholde Erindringen om disses sande Betydning.

For ikke at sammenblande Opløsningens og Tørstoffets Reduktionsevne, ville vi i det Følgende istedetfor den første bruge Betegnelsen Opløsningens Sukkermængde (Druesukker); naar der tales om Reduktionsevne, menes der altsaa altid Tørstoffets.

Forsøgene bleve i alle Tilfælde anstillede paa samme Maade: 10 Grm. Stivelse blev afvejet i et Bægerglas, og i samme Glas omdannet til Klister; dette udførtes ved at udrøre den med 4 Gange saa meget Vand af 40° og til denne Blanding at helde kogende Vand under stadig Omrøring med Thermometret, indtil Klisterdannelsen var indtraadt. Temperaturen var da ca. 75°, og Klisteren henstod derefter, indtil den var afkølet til den Varmegrad, ved hvilken Reaktionen skulde finde Sted. Den blev derpaa hensat i et Vandbad, i hvilket Vandet blev holdt paa en konstant Temperatur; da Indholdet af Bægerglasset vil holde sig nogle Grader koldere end det omgivende Vand, maa dettes Temperatur gjøres noget højere end den, hvorved Forsøget skal foretages. Forskjellen mellem Varmegraden i Bægerglasset og i Vandbadet er naturligvis størst ved de højeste Temperaturer, 70—80°, som der anvendes her, medens den nede ved 30—40° er meget ringe; ved lidt Øvelse lærer man let at regulere Vandbadets Temperatur saaledes, at man kan holde Forsøgene paa den rette Varmegrad. Hvor der skal anstilles flere Forsøg ved samme Temperatur, kan man anbringe flere Bægerglas i det samme Vandbad; i Almindelighed har jeg saaledes taget 4 Forsøg for ad Gangen. Det viste sig imidlertid, at Indholdet af Bægerglassene ikke fik ganske den samme Temperatur, idet de, der stode nærmest over Flammen, bleve varmest. Denne Ulempe kan dog let undgaas ved at indlægge en løs Plade, der ved 3 Klodser holdes i en lille Afstand fra Vandbadets Bund (Fig. 1). Den løse Bund, der fra alle Sider er omgivet af Vand, vil da ogsaa overalt være lige varm, og Bægerglassene ville blive lige stærkt opvarmede, hvad enten de staa i Midten eller ved Randen.

Som Diastaseopløsning anvendtes altid et friskt Udtræk af Køllemalt; nogen Fældning af Diastasen med Vinaand eller sligt er aldrig bleven benyttet; Fermentet, der paavirkes meget stærkt ved mange fremmede Stoffer, vilde sikkert ved en slig Behandling let kunne undergaa væsentlige Forandringer. Udtrækket blev altid tilberedt paa samme Maade; 1 Del knust Malt blev overgydt med 4 Dele Vand, efter Henstand i $^1/_2$-1 Time under jævnlig Omrøring blev det hele hældt i en Siepose, og efter Forløbet af omtrent 4 Timer blev den først gjennemløbne uklare Vædske hældt tilbage i Posen. Det, som nu filtrerede, var fuldkommen klart. Der blev, som sagt, altid benyttet frisk Maltudtræk; i Almindelighed begyndte man at tilberede dette Kl. 3 Eftermiddag; det blev da taget i Brug næste Dags Morgen og som oftest kun benyttet til om Aftenen. Naar det undtagelsesvis var nødvendigt at benytte samme Maltudtræk i 2 eller endog 3 Dage, blev det i Løbet af denne Tid holdt omhyggelig nedpakket i Is, hvorved det da ogsaa bevarede sig ganske uforandret. I mine første Forsøg har jeg i Forvejen opvarmet den Mængde Maltudtræk, der skulde sættes til hver Portion Klister, til samme Temperatur som denne, ved at hensætte den i smaa Bægerglas i Vandbadet; senere har jeg af Grunde, som jeg nedenfor skal gjøre Rede for, opgivet denne Fremgangsmaade og tilsat Maltudtrækket koldt; ved at holde Klisteren lidt over Forsøgstemperaturen, kunde man da let opnaa, at Blandingen netop fik denne.

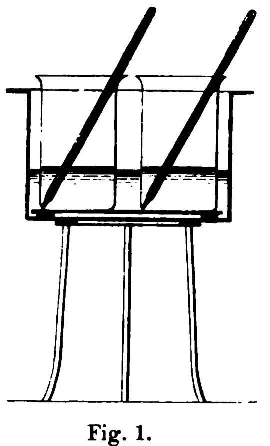


Fig. 1.
1 : 8.

Efter at Maltudtrækket var tilsat og udrørt i den temmelig tyndflydende Klister, indtraadte Opløsningen i Almindelighed overmaade hurtigt. Klokkeslettet, hvorved Maltudtrækket blev tilsat, iagttoges nøje, og efter en bestemt Tids Forløb blev Bægerglasset taget ud af Vandbadet og sat over i et andet med kogende Vand, der var holdt i Beredskab. I Løbet af meget kort Tid blev Vædskens Temperatur derved bragt saa højt op, at Diastasens Virksomhed blev tilintetgjort, og steg tilsidst til c. 93°, hvorpaa den holdtes i nogle Minutter. Den hele »Afkogning« varer som oftest i 5—7 Minutter; nogen Virkning af Diastasen efter Afkogningen er i intet Tilfælde bleven iagttaget. Vædsken blev nu afkølet og fyldt op

til $^1/_4$ Litre. Klisteren udgjorde omtrent 200 Kub. Centimeter, Maltudtrækket højst 30 Kub. Centimeter, saa at man endda kunde skylle Bægerglasset et Par Gange af med destilleret Vand. $^1/_4$ Litre-Flaskerne bleve hensatte i nogen Tid i et Vandbad, hvorigjennem der strømmede Vand af almindelig Temperatur, forinden de bleve fyldte op til Mærket.

Hvad Bestemmelsen af Sukkermængden (Reduktionen) angaar, har jeg, naar Tiden har tilladt det, benyttet Vægt-Analysen; da det imidlertid ved disse Undersøgelser ofte har været nødvendigt at foretage et større Antal Forsøg med samme Maltudtræk og som Følge deraf i Løbet af en forholdsvis meget kort Tid, har jeg ofte maattet lade mig nøje med Titrering, som jeg dog stadig har søgt at kontrollere ved enkelte Vægt-Analyser, der i Virkeligheden have vist, at der ved Titreringen kunde opnaas en ret tilfredsstillende Nøjagtighed. Vægt-Analyserne ere udførte ved Hjælp af de af Soxleth til dette Brug indførte Asbestfiltre, der ere overordentlig bekvemme og indskrænke Tiden til Filtrering, Udvaskning og Tørring til det mindst mulige. Tegningen pag. 127 viser et saadant Filtrerrør i $^1/_4$ naturlig Størrelse. Det nederste tyndere og noget koniske Rør sættes i Proppen af en Flaske, der ved Røret *b* staar i Forbindelse med Vandluftpumpen. Ved *a* er Filtrerrøret indsnævret til en ganske fin Aabning, hvorpaa det udvider sig til en Vidde af c. 12^{mm}. Denne viddere og cylindriske Del af Røret fyldes omtrent halvt med langtraadet Asbest, der i Forvejen ved Udvaskning er befriet for finere Partikler. Udvaskningen foretages ved at plukke Asbesten op og bringe den i en Haarsigte, der staar i et Kar med Vand. Efter at have rørt den godt ud med Vandet, løfter man Sigten op; idet Vandet løber fra, lægger Asbesten sig ligesom Papirmasse i et temmelig fast Lag paa Sigten, saa at det først efter nogen Modstand gjennembrydes af Vandet, naar Sigten trykkes ned deri. Det røres nu igjen ud med Vand o. s. v., og Behandlingen fortsættes, indtil Vandet ikke mere bliver stærkt uklart derved. Det gjemmes nu i et lukket Glas i den fugtige Tilstand. Man stamper Asbesten ret fast i Filtrerrøret, og i dette anbringer man foroven med en Prop en Tragt, gjennem hvilken Vædsken, som skal filtreres, bringes paa Filtret. Først udvasker man dog dette, bedst med varmt Vand, indtil Filtratet er fuldkommen klart og frit for fine Asbesttrevler. Naar Filtrering og Udvaskning ere tilende, hvad der ofte sker saa hurtigt, at man har ondt ved at følge efter med Sprøjteflasken (Filtret maa nemlig ikke gjerne løbe helt tørt, da Bundfaldet derved kan sætte sig meget fast og besværliggjøre Filtreringen), fjærner man Vandet af

Filtret ved en Efterskylning, først med Vinaand og dernæst med Æther. Derved opnaar man tillige, at lidt Kobberforilte, der har sat sig fast paa Tragtens Sider og paa Pennefjeren, hvormed man stryger det af Kogeflasken, med Lethed løsnes af Vinaanden og føres ned paa Asbesten. Tragten og dens Prop tages nu af, og en Strøm af tør Luft suges igjennem Filtret, medens man varmer dette med en Lampe, dog ikke stærkere, end at man kan tage derpaa med Haanden uden at brænde sig. Kobberforiltet lider ved denne Tørring ingen Iltning og kan vejes som saadant; dog blev det tillige ved hver Bestemmelse ved svag Glødning i en Strøm af tør Brint reduceret til Kobber. Ofte gave disse to Bestemmelser ganske overensstemmende Resultater[1]); forsaavidt som der fandtes en Afvigelse, der dog aldrig var betydelig, blev Reduktionsevnen beregnet efter Mængden af metallisk Kobber. Dette kan efter Vejningen i Reglen tages ud som en sammenhængende Kage, uden at ret megen Asbest følger med; Da Asbesten ikke er hygroskopisk, kan man derfor uden videre Forberedelse veje Filtrerrøret og bruge det til en ny Analyse. Jeg har paa denne Maade foretaget over 20 Analyser med samme Filtrerrør uden at forny Fyldningen; at Filtret ikke kjendelig forandrer sin Vægt ved Vaskning med varm, alkalisk Kobber-Opløsning eller ved den svage Glødning, der er nødvendig til Kobberforiltets Reduktion, har jeg ved flere Forsøg overtydet mig om. I alle Tilfælde var Sukkeropløsningen, der blev analyseret, af en Styrke paa omtrent $^1/_2{}^0/_0$, og Mængden af Fehlings Vædske toges saaledes, at den kun var tilstede i ringe, og altid omtrent lige stort, Overskud, hvad der var kjendeligt ved Filtratets svage blaa Farve. Vægten af det reducerede Kobber var omtrent 0,250 Gram i hver Analyse.

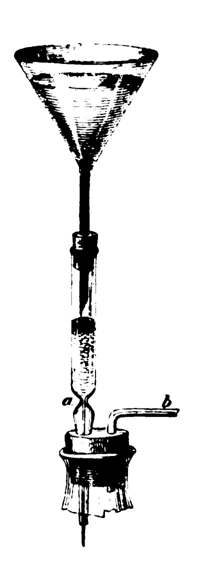


Fig. 2.
1 : 4.

Forsaavidt Reduktionsevnen maatte bestemmes ved Titrering er denne bleven udført paa 2 Maader. Ved den ene Fremgangsmaade, der kun er benyttet ved nogle af de tidligste Forsøgsrækker, lod man Sukkeropløsningen, der ogsaa her holdt omtrent

[1]) 198 Cu^2O = 176.Cu = 100 Druesukker.

$^1/_2$ %, fra en Byrette løbe ned i Kobbervædsken, der befandt sig i en lille Kogeflaske og bestandig holdtes paa Nippet til at koge. Forsøget foretoges altid ved Lampelys; naar man holder Kogeflasken i en passende Afstand foran Kuppelen, ser man et Billede af denne i Vædsken, hvori man let skjønner en lille gullig eller grønlig Nuance. Senere har jeg altid og med stor Fordel benyttet mig af Reischauers Titrermethode, ved hvilken man til en Række Prøveglas, der hvert indeholder den samme Mængde Sukkeropløsning, f. Ex. 5 Kub. Centimeter, sætter en forskjellig Mængde Kobbervædske. Efter Omrystning sættes Glassene i et Stativ ned i et Bad med kogende Vand og blive staaende her, indtil det røde Bundfald har sat sig godt, og Vædsken over det er bleven klar, hvad der for det meste varer omtrent 10 Minutter. I nogle Glas er da Vædsken endnu blaa, i andre ufarvet, gul eller brun, og Grændsen mellem begge Grupper, der svarer til den rigtige Mængde Kobbervædske, er meget iøjnefaldende. Som Exempel hensættes følgende:

Af en Sukkeropløsning, hvis Indhold af Sukker vides at ligge mellem 0,65 og 0,40 %, tages først 6 Prøver à 5 Kub. Centimeter. Kobbervædsken lader man løbe til fra en Byrette; den største Mængde, som de 5 Kub. Centimeter kunne reducere, er 6,5 Kub. Centimeter, den mindste 4 Kub. Centimeter; man vil derfor give de 6 Prøver følgende Tilsætning af Fehlings Vædske: 6,5 — 6,0 — 5,5 — 5,0 — 4,5 — 4,0 Kub.-Centimeter. For ikke at skulle fylde Byretten op til 0 hver Gang, skriver man følgende Addition op:

1 —	6,5
	6,0
2 —	12,5
	5,5
3 —	18,0
	5,0
4 —	23,0
	4,5
5 —	27,5
	4,0
6 —	31,5

I det første Glas lader man da løbe 6,5 Kub.-Centimeter; i Nr. 2 lader man løbe, indtil Svømmerens Mærke staar paa 12,5; i Nr. 3 til 18,0 o. s. v. Prøverne rystes og sættes i kogende Vand. Efter at de have klaret sig godt, tages de op; det viser sig da, at Nr. 1 og 2 ere stærkt blaa, Nr. 3 yderst svagt blaa, medens Nr. 4 er lysegul, Nr. 5 og 6 stærkt brunfarvede. Ifølge dette maa

Opløsningen indeholde mellem $0{,}55$ og $0{,}50$, nærmest $0{,}55$ Procent Sukker. For at bestemme Indholdet nøjagtigere, tager man atter 6 Prøver à 5 Kub.-Centimeter af samme Sukkeropløsning og giver dem følgende Tilsætning af Kobbervædske:

1	—	$5{,}5$
		$5{,}4$
2	—	$10{,}9$
		$5{,}3$
3	—	$16{,}2$
		$5{,}2$
4	—	$21{,}4$
		$5{,}1$
5	—	$26{,}5$
		$5{,}0$
6	—	$31{,}5$

Efter endt Reduktion viser det sig, at Nr. 1 som før er ganske svagt blaa, Nr. 2 synes ufarvet, Nr. 3—6 ere tydeligt og tiltagende gulfarvede. $5{,}4$ Kub.-Centimeter Fehlings Vædske har altsaa netop været tilstrækkeligt til at reducere 5 Kub.-Centimeter Sukkeropløsning, og Vædsken indeholder altsaa $0{,}54$% Sukker. $5{,}4$ Kub.-Centimeter Fehlings Vædske svarer nemlig til $0{,}027$ Gram Sukker, men $0{,}027$ Gram Sukker i 5 Kub.-Centimeter giver $0{,}54$ Gram i 100 Kub.-Centimeter. Naar man altsaa til hver Prøve tager 5 Kub.-Centimeter Sukkeropløsning, vil det Antal Kub.-Centimeter Kobbervædske, som man bruger til fuldstændig Reduktion, ligefrem udtrykke Tiendedele Procent Sukker.

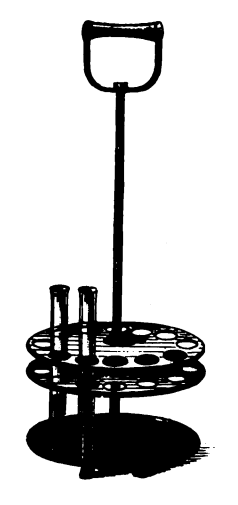


Fig. 3.
1 : 5.

Man kan naturligvis godt hensætte flere Analyser til Reduktion paa samme Tid i Stativet, naar man blot ved tilbørlige Mærker paa Glassene har sørget for, at ingen Forvexling kan finde Sted. Derved kan det lykkes i kort Tid at faa et større Antal Analyser fuldførte, end det har været mig muligt paa nogen anden Maade, og tillige med ret tilfredsstillende Nøjagtighed, som flere kontrollerende Vægt-Analyser have vist. Istedetfor det oprindelige af Reischauer konstruerede Stativ, hvori Prøveglassene indspændes,

har jeg ladet gjøre et andet (Fig. 3), med Plads til 12 Glas, der styres foroven af 2 Plader med tilsvarende Huller, forneden af en Bund af Messingtvist med en lille ophøjet Rand. Bunden er af Tvist, for at Vandet kan løbe fra, naar Stativet tages op af Badet; de to øverste Plader ere, som Figuren viser, anbragte hinanden temmelig nær for at kunne styre Glassene, selv om Opdriften løfter dem et Stykke tilvejrs.

Igjennem Centrum af alle tre Bunde gaar en Stang, som forneden ender i en lille Trefod, foroven i et Haandtag af Træ. Vandbadet maa være saa dybt, at Vandet kan staa over den øverste Plade.

Efter disse foreløbige Bemærkninger om Planen for Forsøgene og de anvendte analytiske Methoder skal jeg gaa over til at omtale de Resultater, som Forsøgene have givet.

I.

Diastase-Mængdens Indflydelse paa Sukkerdannelsen.

For at komme til Kundskab om Forholdet mellem den tilsatte Mængde Diastase og den dannede Mængde Sukker, blev til flere Portioner Klister, hver à 10 Gram Stivelse, sat forskjellige Mængder Maltudtræk, medens forøvrigt alle andre Forhold indenfor hver enkelt Forsøgsrække vare ganske uforandrede. Reaktionen foregik ved den samme Temperatur, ved 57° i den første Forsøgsrække, 55° i den anden; Tiden, i hvilken Diastasen virkede, var nøjagtig den samme, nemlig 10 Minutter i begge Rækker.

1ste Forsøgsrække.

Forsøg Nr.	Kub.-Cent. Maltudtræk.	Sukker i 100 Kub.-Cent.	Deraf:	
			Fra Maltudtrækket.	Fra Stivelsen.
1	2	0,325	0,012	0,313
2	4	0,620	0,024	0,596
3	6	0,900	0,036	0,864
4	8	1,120	0,048	1,072
5	10	1,25	0,06	1,19
6	12	1,37	0,07	1,30

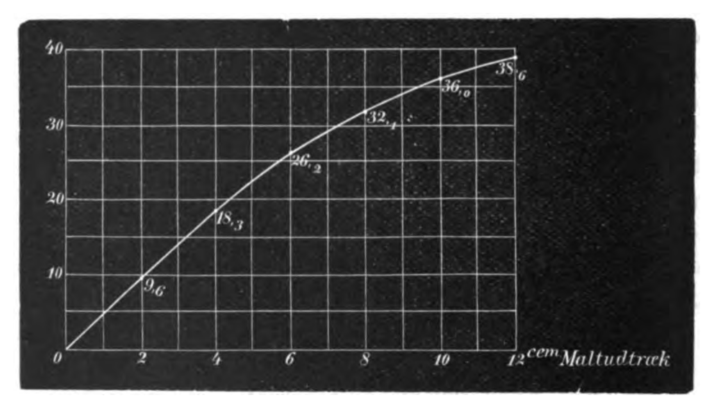
Til Bestemmelse af Opløsningens Styrke blev dens Vægtfylde nøjagtig bestemt ved Pyknometret. O'Sullivan har angivet, at

Maltose og Dextrin i Opløsning have samme Vægtfylde, at 10% Opløsninger af begge have Vægtfylden 1,03850, og at denne forøvrigt indenfor visse Grændser er proportional med Procentstyrken. Ved altsaa at dividere Tallet 385 ind i Decimalerne af Vægtfylden (denne angivet med 5 Decimaler), erholder man ligefrem Tørstofmængden bestemt med 2 Decimaler i Procenterne. Naar en Opløsning f. Ex. har en Vægtfylde = 1,02650, vil den indeholde $\frac{2650}{385}$ = 6,88% Tørstof. Ved saaledes at bestemme Vægtfylden af ovenstaaende Opløsninger fandt man en Tørstofmængde, der steg jævnt fra 3,26 i Nr. 1 til 3,35 i Nr. 6. Stivelsen, der var anvendt til Forsøgene, indeholdt 19% Vand; de 10 Gram lufttør Stivelse indeholdt altsaa 8,1 Gram tør Stivelse. Efter Forsøgets Slutning fyldte man, som nævnt, op til 250 Kub.-Centimeter, og denne Opløsnings Styrke vilde altsaa være $\frac{810}{250}$ = 3,24%, hvis Opløsningen var foregaaet uden Hydratation, eller med andre Ord, hvis Vædsken kun indeholdt de isomere Stoffer: opløselig Stivelse og Dextrinerne. Forøgelsen i Tørstofmængden hidrører fra Optagelsen af Vand ved Sukkerdannelsen; naar, som i Forsøg Nr. 6, Analysen har givet 1,30% Sukker, svarer dette til 1,95% Maltose, men 1,95% Maltose er opstaaet af 1,85 Stivelse (Dextrin); der er altsaa sket en Forøgelse af Tørstofmængden paa 0,10, eller af 3,24 Gram er der bleven 3,34 Gram, hvad der netop stemmer med, hvad vi ovenfor have udledet af Vægtfyldebestemmelserne. Ved denne og flere andre Lejligheder har jeg, ved at bruge de O'Sullivanske Tal, faaet Værdier, der svarede saa nøje til, hvad man ad anden Vej kunde beregne, at jeg ikke nærer nogen Tvivl om deres Rigtighed.

Jeg har anset det for rettest i de paafølgende Arbejder simpelthen at angive de undersøgte Opløsningers Reduktionsevne, eller, med andre Ord, Sukkermængden beregnet som Druesukker. Som anført pag. 118, have Musculus og Gruber søgt at paavise, at der dannes en ringe Mængde Druesukker ved Siden af Maltoset, ligesom de ogsaa ville tillægge de forskjellige af dem opstillede Dextrinarter, ja endog opløselig Stivelse, en vis Reduktionsevne. Denne Antagelse synes nu rigtignok gjendreven ved O'Sullivans Analyser, og jeg vil ogsaa paa et senere Punkt i dette Arbejde komme til at vise det højst sandsynlige i, at Maltose alene frembringer Reduktionen, saa at man, ved at multiplicere denne med 1,5, finder det sande Udtryk for Sukkermængden. En saadan Undersøgelse ligger dog langt udenfor min Plan. Jeg kan her kun paany fremhæve, at Overensstemmelsen mellem O'Sullivans kemiske og optiske Analyser i højeste Grad synes at tale til Gunst for hans Antagelse, og det er ogsaa kun ved at gjentage hans Forsøg og finde dem

bekræftede, at jeg har faaet den samme Mening om denne Sag. Imidlertid kæmpes der jo endnu herom, og det forekom mig derfor heldigst at søge en Betegnelse for de analytiske Resultater, der ikke kunde paavirkes af Stridens Udfald. Dette opnaas bedst ved blot at angive Reduktionsevnen, en Størrelse, der findes direkte ved Analysen; idet vi holde os til den, blive de Resultater, som afledes af Forsøgene, ganske upaavirkede af, om det maaske senere skulde blive slaaet fast, at en Del af Reduktionsevnen skyldes Dextrinerne, eller at Maltoset frembringer den alene.

Ved at dividere den fundne Værdi for Sukker med Opløsningens Tørstofmængde, vil man finde den tilsvarende Reduktionsevne. Man vil da faa for Forsøg Nr. 1 en Reduktionsevne R = 9,6, for Nr. 2 R = 18,3, for Nr. 3 R = 26,2, for Nr. 4 R = 32, for Nr. 5 R = 36 og for Nr. 6 R = 39. For bedre Oversigts Skyld har jeg grafisk fremstillet Resultaterne i nedenstaaende Kurve, hvori Reduktionerne ere Ordinater, medens Abscisserne ere Kub.-Centim. Maltudtræk. Det



Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 10 Minutter ved 57°.

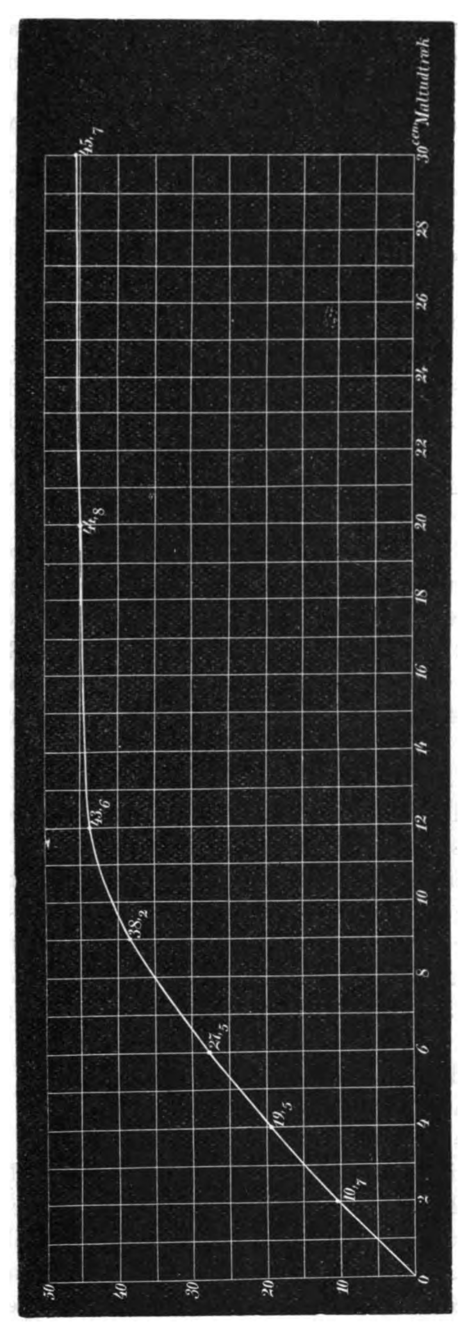
ses, at denne Kurve i Begyndelsen danner en næsten ret Linie, men senere bøjer sig stærkere og stærkere ned imod Abscisseaxen, eller, med andre Ord, at Sukkerdannelsen i Begyndelsen er omtrent proportional med Diastasemængden, men senere langt fra voxer i Forhold til denne.

2den Forsøgsrække.

I denne Forsøgsrække blev Kurven bestemt paa et betydelig større Stykke, idet der blev anstillet Forsøg med fra 2—30 Kub.-Centimeter Maltudtræk pr. 10 Gram Stivelse. Ved at kaste et

Blik paa Kurven, vil man da ogsaa se, at denne er bestemt i alle sine væsentlige Dele. Man ser ligesom af den foregaaende, at vi i Begyndelsen have en Sukkerdannelse, der er proportional med Mængden af Maltudtræk. Naar Reduktionen bliver større end c. 30 (45 %), Maltose), mærker man, at Sukkermængden tiltager i stedse svagere Forhold, og naar Reduktionen 44 (66 % Maltose) er naaet, standser Sukkerdannelsen næsten ganske; en Forøgelse af Maltudtrækket fra 12 til 30 Kub.-Centimeter har kun givet os en Forøgelse i Reduktionen fra 43,8 til 45,7 (fra 65,7 % Maltose til 68,5 %).

Man ser endvidere, at der finder en Sukkerdannelse Sted ogsaa i Processens allerførste Stadier; i det Øjeblik, der har fundet nogen Opløsning af Stivelsen Sted, er der ogsaa Sukker tilstede, og det har ikke været muligt at fremstille en Opløsning, der kun indeholdt opløselig Stivelse eller Dextrin.



Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 10 Minutter ved 55°.

har jeg ladet gjøre et andet (Fig. 3), med Plads til 12 Glas, der styres foroven af 2 Plader med tilsvarende Huller, forneden af en Bund af Messingtvist med en lille ophøjet Rand. Bunden er af Tvist, for at Vandet kan løbe fra, naar Stativet tages op af Badet; de to øverste Plader ere, som Figuren viser, anbragte hinanden temmelig nær for at kunne styre Glassene, selv om Opdriften løfter dem et Stykke tilvejrs.

Igjennem Centrum af alle tre Bunde gaar en Stang, som forneden ender i en lille Trefod, foroven i et Haandtag af Træ. Vandbadet maa være saa dybt, at Vandet kan staa over den øverste Plade.

Efter disse foreløbige Bemærkninger om Planen for Forsøgene og de anvendte analytiske Methoder skal jeg gaa over til at omtale de Resultater, som Forsøgene have givet.

I.

Diastase-Mængdens Indflydelse paa Sukkerdannelsen.

For at komme til Kundskab om Forholdet mellem den tilsatte Mængde Diastase og den dannede Mængde Sukker, blev til flere Portioner Klister, hver à 10 Gram Stivelse, sat forskjellige Mængder Maltudtræk, medens forøvrigt alle andre Forhold indenfor hver enkelt Forsøgsrække vare ganske uforandrede. Reaktionen foregik ved den samme Temperatur, ved 57° i den første Forsøgsrække, 55° i den anden; Tiden, i hvilken Diastasen virkede, var nøjagtig den samme, nemlig 10 Minutter i begge Rækker.

1ste Forsøgsrække.

Forsøg Nr.	Kub.-Cent. Maltudtræk.	Sukker i 100 Kub.-Cent.	Deraf:	
			Fra Malt-udtrækket.	Fra Stivelsen.
1	2	0,325	0,012	0,313
2	4	0,620	0,024	0,596
3	6	0,900	0,036	0,864
4	8	1,120	0,048	1,072
5	10	1,25	0,06	1,19
6	12	1,37	0,07	1,30

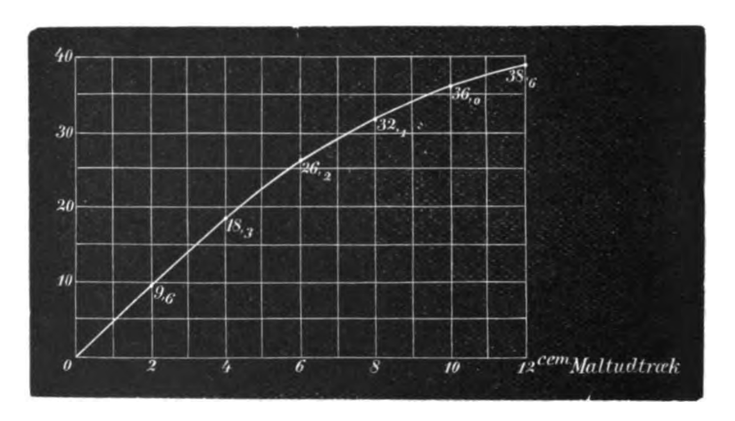
Til Bestemmelse af Opløsningens Styrke blev dens Vægtfylde nøjagtig bestemt ved Pyknometret. O'Sullivan har angivet, at

Maltose og Dextrin i Opløsning have samme Vægtfylde, at 10% Opløsninger af begge have Vægtfylden $1{,}03850$, og at denne forøvrigt indenfor visse Grændser er proportional med Procentstyrken. Ved altsaa at dividere Tallet 385 ind i Decimalerne af Vægtfylden (denne angivet med 5 Decimaler), erholder man ligefrem Tørstofmængden bestemt med 2 Decimaler i Procenterne. Naar en Opløsning f. Ex. har en Vægtfylde = $1{,}02650$, vil den indeholde $\frac{2650}{385}$ = $6{,}88$% Tørstof. Ved saaledes at bestemme Vægtfylden af ovenstaaende Opløsninger fandt man en Tørstofmængde, der steg jævnt fra $3{,}26$ i Nr. 1 til $3{,}35$ i Nr. 6. Stivelsen, der var anvendt til Forsøgene, indeholdt 19% Vand; de 10 Gram lufttør Stivelse indeholdt altsaa $8{,}1$ Gram tør Stivelse. Efter Forsøgets Slutning fyldte man, som nævnt, op til 250 Kub.-Centimeter, og denne Opløsnings Styrke vilde altsaa være $\frac{810}{250}$ = $3{,}24$%, hvis Opløsningen var foregaaet uden Hydratation, eller med andre Ord, hvis Vædsken kun indeholdt de isomere Stoffer: opløselig Stivelse og Dextrinerne. Forøgelsen i Tørstofmængden hidrører fra Optagelsen af Vand ved Sukkerdannelsen; naar, som i Forsøg Nr. 6, Analysen har givet $1{,}30$% Sukker, svarer dette til $1{,}95$% Maltose, men $1{,}95$% Maltose er opstaaet af $1{,}85$ Stivelse (Dextrin); der er altsaa sket en Forøgelse af Tørstofmængden paa $0{,}10$, eller af $3{,}24$ Gram er der bleven $3{,}34$ Gram, hvad der netop stemmer med, hvad vi ovenfor have udledet af Vægtfyldebestemmelserne. Ved denne og flere andre Lejligheder har jeg, ved at bruge de O'Sullivanske Tal, faaet Værdier, der svarede saa nøje til, hvad man ad anden Vej kunde beregne, at jeg ikke nærer nogen Tvivl om deres Rigtighed.

Jeg har anset det for rettest i de paafølgende Arbejder simpelthen at angive de undersøgte Opløsningers Reduktionsevne, eller, med andre Ord, Sukkermængden beregnet som Druesukker. Som anført pag. 118, have Musculus og Gruber søgt at paavise, at der dannes en ringe Mængde Druesukker ved Siden af Maltoset, ligesom de ogsaa ville tillægge de forskjellige af dem opstillede Dextrinarter, ja endog opløselig Stivelse, en vis Reduktionsevne. Denne Antagelse synes nu rigtignok gjendreven ved O'Sullivans Analyser, og jeg vil ogsaa paa et senere Punkt i dette Arbejde komme til at vise det højst sandsynlige i, at Maltose alene frembringer Reduktionen, saa at man, ved at multiplicere denne med $1{,}5$, finder det sande Udtryk for Sukkermængden. En saadan Undersøgelse ligger dog langt udenfor min Plan. Jeg kan her kun paany fremhæve, at Overensstemmelsen mellem O'Sullivans kemiske og optiske Analyser i højeste Grad synes at tale til Gunst for hans Antagelse, og det er ogsaa kun ved at gjentage hans Forsøg og finde dem

bekræftede, at jeg har faaet den samme Mening om denne Sag. Imidlertid kæmpes der jo endnu herom, og det forekom mig derfor heldigst at søge en Betegnelse for de analytiske Resultater, der ikke kunde paavirkes af Stridens Udfald. Dette opnaas bedst ved blot at angive Reduktionsevnen, en Størrelse, der findes direkte ved Analysen; idet vi holde os til den, blive de Resultater, som afledes af Forsøgene, ganske upaavirkede af, om det maaske senere skulde blive slaaet fast, at en Del af Reduktionsevnen skyldes Dextrinerne, eller at Maltoset frembringer den alene.

Ved at dividere den fundne Værdi for Sukker med Opløsningens Tørstofmængde, vil man finde den tilsvarende Reduktionsevne. Man vil da faa for Forsøg Nr. 1 en Reduktionsevne R = 9,6, for Nr. 2 R = 18,3, for Nr. 3 R = 26,2, for Nr. 4 R = 32, for Nr. 5 R = 36 og for Nr. 6 R = 39. For bedre Oversigts Skyld har jeg grafisk fremstillet Resultaterne i nedenstaaende Kurve, hvori Reduktionerne ere Ordinater, medens Abscisserne ere Kub.-Centim. Maltudtræk. Det



Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 10 Minutter ved 57°.

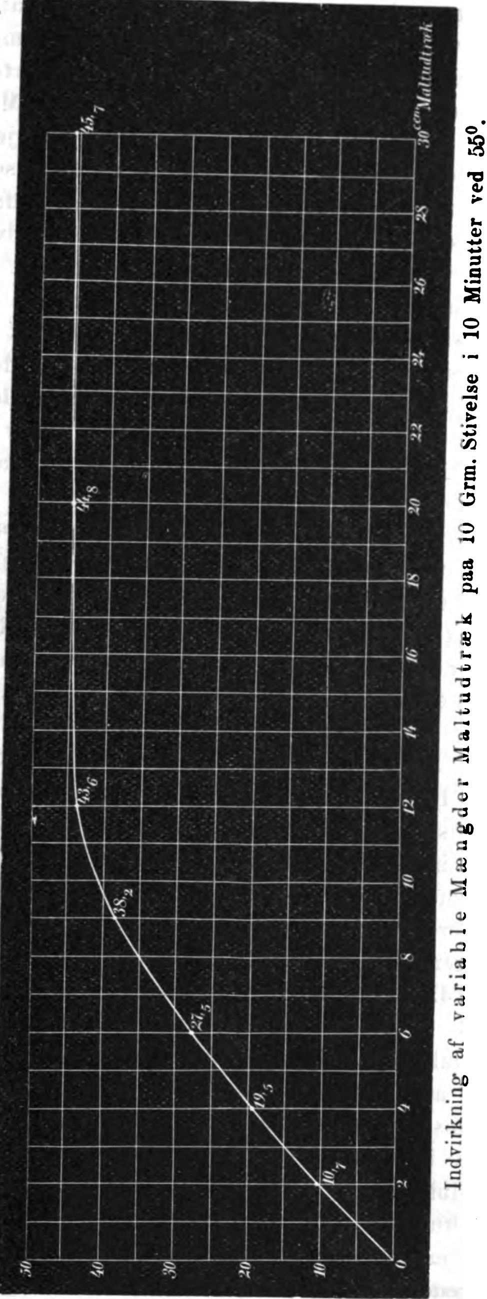
ses, at denne Kurve i Begyndelsen danner en næsten ret Linie, men senere bøjer sig stærkere og stærkere ned mod Abscisseaxen, eller, med andre Ord, at Sukkerdannelsen i Begyndelsen er omtrent proportional med Diastasemængden, men senere langt fra voxer i Forhold til denne.

2den Forsøgsrække.

I denne Forsøgsrække blev Kurven bestemt paa et betydelig større Stykke, idet der blev anstillet Forsøg med fra 2—30 Kub.-Centimeter Maltudtræk pr. 10 Gram Stivelse. Ved at kaste et

Blik paa Kurven, vil man da ogsaa se, at denne er bestemt i alle sine væsentlige Dele. Man ser ligesom af den foregaaende, at vi i Begyndelsen have en Sukkerdannelse, der er proportional med Mængden af Maltudtræk. Naar Reduktionen bliver større end c. 30 (45% Maltose), mærker man, at Sukkermængden tiltager i stedse svagere Forhold, og naar Reduktionen 44 (66% Maltose) er naaet, standser Sukkerdannelsen næsten ganske; en Forøgelse af Maltudtrækket fra 12 til 30 Kub.-Centimeter har kun givet os en Forøgelse i Reduktionen fra 43,8 til 45,7 (fra 65,7% Maltose til 68,5%).

Man ser endvidere, at der finder en Sukkerdannelse Sted ogsaa i Processens allerførste Stadier; i det Øjeblik, der har fundet nogen Opløsning af Stivelsen Sted, er der ogsaa Sukker tilstede, og det har ikke været muligt at fremstille en Opløsning, der kun indeholdt opløselig Stivelse eller Dextrin.



Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 10 Minutter ved 55°.

En af de Bevæggrunde, der først ledede mig til at tage disse Spørgsmaal for, var den, at jeg ønskede at finde et Middel til en relativ Bestemmelse af Diastasen, eller, som man vel rettere burde sige, Fermentevnen, i de forskjellige Maltsorter og paa de forskjellige Stadier af Spiringsprocessen og under Maltets senere Behandling. Efter forgjæves at have forsøgt forskjellige andre Fremgangsmaader, tror jeg nu paa Basis af de nysomtalte Forsøg at have fundet en Methode, der giver fulkommen tilfredsstillende Resultater. Jeg skal senere nærmere komme til at udvikle den og de Resultater, som jeg ved Hjælp af den er naaet til, skjønt de ikke ere saa mange og saa fuldstændige, som jeg kunde have ønsket, da den store Mængde Spørgsmaal, der i Løbet af Undersøgelsen frembød sig, længe ledede mit Arbejde i anden Retning. Methoden bestaar egentlig kun i en Benyttelse af den foranstaaende Kurve og da navnlig den første Del af den, hvor Reduktionen er mindre end 25—30. Denne Del af Kurven er næsten retliniet: 2 Kub.-Centimetér Maltudtræk have frembragt en Reduktionsevne af 10,7, 4 Kub.-Centimeter have givet 20,0, altsaa paa det nærmeste dobbelt saa meget. Man kan altsaa med stor Tilnærmelse sige, at Forholdet mellem 2de Opløsningers Diastasemængde (Fermentevne) kan udtrykkes ved den Reduktionsevne, som de frembringe, naar de begge virke paa lige store Mængder Stivelseklister ved samme Temperatur og i lige lang Tid, forudsat, at Reduktionsevnen ikke bringes op over 25—30 (Loven om Proportionaliteten).

Denne simple Lov er af særdeles stor Vigtighed ved Undersøgelser over Diastasen, idet den danner Grundlaget for enhver Maaling af Fermentevne. Imidlertid er det aldeles nødvendigt ved sammenlignende Forsøg herover at holde sig til de lavere Reduktioner. Vilde man f. Ex. antage, at Diastasemængden i 2 Opløsninger, der frembragte Reduktionerne 38 og 45, forholdt sig som 38 : 45 = 100 : 118, vilde man begaa en grov Fejl. Kurven pag. 133 viser os, at 9,6 Kub.-Centimeter Maltudtræk frembringer Reduktionen 38, medens der behøves c. 21 Kub.-Centimeter for at faa Reduktionen 45. Det sande Forhold mellem de to Opløsningers Fermentevne vilde altsaa være 9,6 : 21 = 100: 219 istedetfor 100 : 118, Da man imidlertid ogsaa vil faa en Reduktion af c. 45 ved at tage 18, 22 eller 24 Kub.-Centimeter Maltudtræk, vil man i det hele taget ikke kunne slutte noget sikkert om Diastasemængden af Sukkerdannelsen, naar denne er skreden saa vidt frem som i dette Exempel. Naar vi derimod med ét Maltudtræk faa Reduktionen 10,7, med et andet Reduktionen

20, kunne vi sige, at Diastasemængderne i de to Udtræk forholde sig omtrent som 10,7 : 20 = 100 : 187. Istedetfor at bruge Forholdet mellem Ordinaterne 10,7 og 20, er det dog korrektere at bruge Forholdet mellem de dertil·svarende Abscisser 2 og 4 af Kurven pag. 133. Derefter vil altsaa det sande Forhold mellem Diastasemængderne i de 2 Udtræk blive 2 : 4 eller 100 : 200 (istedetfor 100 : 187).

Det vil heraf ses, at, saalænge Loven om Proportionaliteten og de Grændser, indenfor hvilke den gjælder, ikke vare nøjagtig bekjendte, kunde der ikke være Tale om nogen Maaling af Fermentevnen af Maltudtræk.

Kurven pag. 133 viser, at vi, ved at lade en rigelig Mængde Maltudtræk indvirke paa Stivelseklister ved c. 55°, faa en Reduktionsevne paa 45, eller en Maltosemængde paa c. 68 %, der ikke afhænger kjendeligt af, hvormeget Maltudtræk man har brugt. Dette Tal stemmer meget godt med det, som O'Sullivans Ligning (1) giver (67,8 %), og er forsaavidt en Bekræftelse af denne Lignings Rigtighed. Imidlertid er den nævnte Reduktion 45 kun et Middeltal; i Virkeligheden stiger den bestandigt, om end langsomt, med Mængden af Maltudtræk, og det forekommer mig i det hele taget ved Betragtning af Kurven temmeligt usandsynligt, at vi her skulde have at gjøre med en Spaltning i bestemte støchiometriske Forhold. Dette bliver endnu mindre sandsynligt ved Betragtning af Jodreaktionen. Angaaende denne kun følgende Bemærkninger:

Mine Forsøg ere i den Henseende forskjellige fra O'Sullivans, at han, naar han vil afslutte sit Forsøg, søger at afbryde Sukkerdannelsen ved hurtig Afkøling, medens jeg har foretrukket at standse den ved Opvarmning. Som jeg senere skal vise, er den Fejl, der kan indløbe ved en Eftervirkning af Diastasen udenfor de for Forsøget afstukne Grændser, meget større ved en hurtig Afkøling end ved en hurtig Opvarmning. O'Sullivan har anvendt Afkøling for at konstatere, at Vædsken, naar den ikke havde været kogt og blev omhyggeligt filtreret, ikke gav nogen Reaktion med Jod, saasnart Sukkerdannelsen var indtraadt i det ved hans 3 Ligninger angivne Omfang. Naar Vædsken blev kogt, medens den endnu indeholdt den lille Rest af Stivelse, der altid bliver uopløst tilbage, skulde derimod Filtratet give en blaa eller brun Farve med Jod. Da Jodreaktionen ikke her skulde benyttes til Bedømmelsen af Omdannelsens Fremadskriden, var det ogsaa ligegyldigt, om der ved Kogningen blev meddelt Vædsken den Evne at farves med Jod, eller ikke. Jeg kan dog ikke undlade at bemærke, at den Jodreaktion, som Vædsken giver, næsten lige

til vi naa Reduktionens Maximum, næppe kan tilskrives Kogningens Indflydelse, men at der efter al Sandsynlighed findes jodfarvende Dextriner i Opløsningen, lige til Reduktionen er stegen til 44. Naar Reduktionen er c. 15, lader Vædsken efter Afkogning og Nedsvaling sig filtrere fuldkommen klar. Filtratet giver blaa Farve med Jod. Sætte vi nu til dette Filtrat en lige saa stor Mængde Maltudtræk som forrige Gang og digerere det dermed ved samme Temperatur og i den samme Tid, vil Reduktionsevnen stige til henimod 30. Her kan Afkogningen ikke bringe jodfarvende Stoffer i Opløsningen, da denne var fuldkommen klar i Forvejen, men ikke destomindre vil Vædsken endnu give en brun Farve med Jod. Saafremt den blaa Jodreaktion i forrige Tilfælde hidrørte alene fra de Spor, som Kogningen havde bragt i Opløsning, maatte den dog ganske sikkert være forsvunden ved den paafølgende Digestion med Diastasen. Jeg har i det hele taget fundet, at der til en vis Reduktionsevne altid svarede en bestemt Jodreaktion, saaledes at vi ved Reduktioner paa under 20 have blaa eller violet Jodreaktion og fra 20 til 30 brunrød og brun; ved højere Reduktioner aftog Jodreaktionen gjennem flere gulbrune og gule Nuancer, indtil den, efter at Reduktionsmaximum 44 er naaet, kun viste sig som en ringe Forøgelse af Jodopløsningens egen Farve (jfr. Barfoed, De organiske Stoffers qvalitative Analyse pag. 221). Dette stemmer vel med Musculus tidligste Udtalelse, at Jodreaktionens Aftagen er et Maal for Sukkerdannelsens Fremadskriden, og at denne er afsluttet, naar Jod ikke mere giver nogen Farve. Denne Jodreaktionens gradvise Aftagen under Forløbet af Stivelsens Omdannelse i Forbindelse med Sukkerets Optræden lige fra Processens første Stadier er i god Overensstemmelse med den af Musculus og Gruber fremsatte Theori, hvorefter der skulde finde en Række Spaltninger Sted, hvorved der bestandig dannes Dextriner af mindre Molekularvægt, »højere« Dextriner, idet »lavere« Dextriner omdannes til saadanne og til Maltose.

II.

Temperaturens Indflydelse paa Sukkerdannelsen.

Gjennem Schwarzers og O'Sullivans Undersøgelser er det bekjendt, hvilken stor Indflydelse Temperaturen, hvorved Sukkerdannelsen finder Sted, har paa denne. Begge have endvidere paavist, at Maltudtræk, der en Gang har været opvarmet til en højere Temperatur, ikke kan frembringe mere Sukker end det, der svarer

til denne Temperatur, selv om man lader det virke paa Stivelse ved lavere Varmegrad. Som efterfølgende Forsøg udvise, medfører Opvarmning over et vist Punkt en Svækkelse af Maltudtrækkets Fermentevne; men denne Svækkelse er ikke blot afhængig af Temperaturen, hvortil man har opvarmet det, men tillige af, hvorlænge man har holdt det paa denne Temperatur, saa at f. Ex. en længere Opvarmning til 66° kan frembringe samme Svækkelse, som en kortere til 70°.

Til hver af de 6 Forsøg toges 10 Gram Stivelse og 8 Kub.-Centimeter Maltudtræk. Sukkerdannelsen fortsattes i 15 Minutter ved 55°. Maltudtrækket blev i Forvejen opvarmet:

I Forsøg	Nr. 1	til	73°	i 6	Minutter,	R = 11,6.
—	- 2	-	73°	i 15	—	R = 8,9.
—	- 3	-	65°	i 6	—	R = 24,9.
—	- 4	-	65°	i 18	—	R = 15,2.
—	- 5	-	55°	i 5	—	R = 42,0.
—	- 6	-	55°	i 15	—	R = 42,0.

Altsaa svækkes Diastasen ved Opvarmning til højere Temperaturer (over 63°?) mere og mere, medens Opvarmning til Temperaturer under 63° ikke synes at medføre nogen Forandring i Fermentevnen, hvad enten den varer noget kortere eller længere. Efter Udfaldet af disse Forsøg ansaa jeg det for rettest slet ikke at forudvarme Maltudtrækket, men notere den Temperatur, som fremkom, naar Klisteren efter hurtig Omrøring med Maltudtrækket var opløst, og vedligeholde denne til Forsøgets Slutning (jvfr, pag. 125).

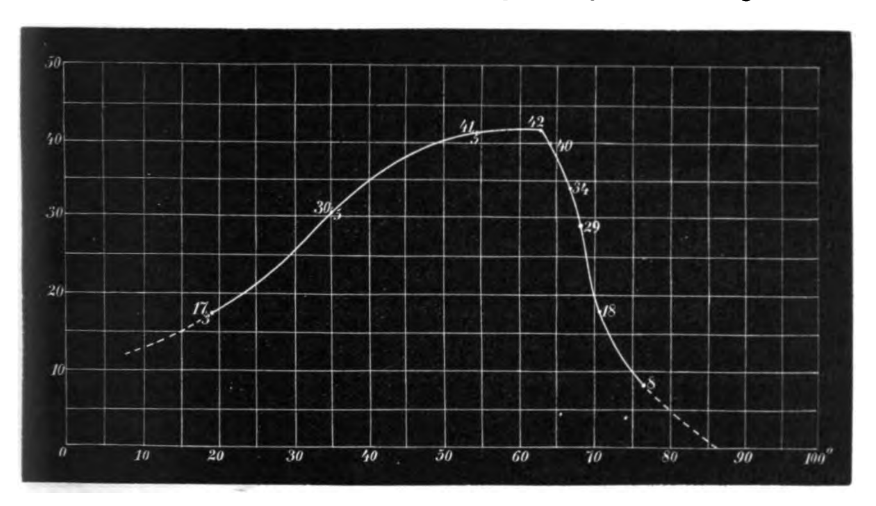
Naar Vædsken efter Forsøgets Slutning opvarmes til 90° for at tilintetgjøre Fermentevnen, er det klart, at Diastasen faar Lejlighed til at virke en kort Tid ved alle de Temperaturer, som ligge imellem den i Forsøget anvendte og den, hvorved Fermentevnen udslukkes (lidt over 80°, som det senere skal ses). Naar f. Ex. Diastasens Virkning ved 40° skulde bestemmes, behøvedes der omtrent 1½ Minut for at bringe Vædskens Temperatur fra 40° op til 80°, saa at altsaa Diastasen ogsaa har kunnet virke en ganske kort Tid ved 50°, 60° o. s. v. Det er klart, at den lille Fejl. som herved indføres, er desto større, jo lavere Temperatur Forsøgene anstilles ved, medens den ved Temperaturer, der nærme sig Diastasens Virksomhedsgrændse, bliver forsvindende. Jeg har forsøgt, hvorvidt en meget hurtig Afkøling muligvis vilde give en mindre Fejl, end Afkogningen. I den Hensigt har jeg anstillet 2 Forsøg, hvert med 10 Gram Stivelse, der, efter at være omdannet til Klister, blev paavirket af 8 Kub.-Centimeter Maltudtræk i 10 Minutter ved 40°.

Den ene Opløsning blev paa sædvanlig Maade afkogt, hvad der tog omtrent 2 Minutter, og dernæst afkølet, den anden derimod strax afkølet ved at nedsættes i et Vandbad med Is og Kogsalt, hvorved Vædsken i Løbet af 4 Minutter blev nedsvalet til 15°. I begge Prøver blev Sukkeret bestemt strax efter Afkøling, og Reduktionsevnen beregnet; for den afkogte Prøve var R = 35, for den strax afkølede R = 40. Det viser sig altsaa, at der selv ved en saa hurtig Afkøling fandt en betydelig Eftervirkning Sted af Diastasen, saa at denne Methode ikke lader sig benytte. En Maade, at formindske den omtalte Fejl paa, er derimod aabenbart at forlænge Tiden for Diastasens Indvirkning, idet den da paa en Maade mere »bruger sig op« ved den Temperatur, hvorved Forsøget anstilles, saa at den ikke kan udvirke nogen kjendelig Virkning ved de andre Temperaturer, som den senere bringes op paa. Medens Sukkerdannelsen i de forrige Rækker kun varede 10 Minutter, har jeg derfor ved disse Forsøg over Temperaturens Indflydelse fortsat Digestionen i 15 Minutter.

For at eliminere Varmegradens Indflydelse paa Sukkerdannelsen maa naturligvis de andre Faktorer, nemlig Mængden af Stivelse og Maltudtræk, samt Tiden, hvori de virke paa hinanden, være fuldkommen ens i alle Forsøgene. Ligesom i forrige Forsøgsrække er der stadig taget 10 Gram Stivelse hver Gang, og efter endt Sukkerdannelse, Afkogning og Nedsvaling er Vædsken fyldt op til 250 Kub.-Centimeter; Mængden af Maltudtræk, som skulde bruges ved hvert Forsøg, har jeg sat til 8 Kub.-Centimeter. Valget af denne Mængde er naturligvis ikke nogen ligegyldig Sag; den maa helst være en saadan, at den kan bringe Reduktionsevnen op til dens Maximum, naar den virker under den heldigste Temperatur. Over denne Mængde maa man paa ingen Maade bruge, da man i saa Fald ikke vil kunne finde Optimum for Varmegraden, idet den store Mængde Maltudtræk ogsaa ved andre Temperaturer vil bringe os op til Maximum af Reduktion. Meget under denne Mængde bør man heller ikke tage, da Sukkerdannelsen jo saa i det hele bliver svagere, og Forskjellighederne i den ved forskjellige Temperaturer derfor ogsaa mindre iøjnefaldende. Som Forsøgene skulle vise, opfylder den ovennævnte Mængde af 8 Kub.-Centimeter netop de her opstillede Betingelser.

Forsøgene ere forøvrigt udførte ganske som de tidligere. I hver Opløsning bestemte man Mængden af Sukker og Tørstof og beregnede deraf Reduktionsevnen, efter at have indført den tilbørlige Korrektion for Maltudtrækket. De fundne Tal har jeg ligesom i de foregaaende Forsøgsrækker indlagt som Punkter i et Koordinat-

system og forbundet dem ved en Kurve. Her betyde Abscisserne Varmegrader, medens Ordinaterne ligesom før ere Reduktioner. Af denne Kurve lære vi, at Fermentets sukkerdannende Evne allerede ved almindelig Temperatur er ret virksom; naar Temperaturen stiger, voxer Fermentets Virkning hurtigt indtil henimod 50°. Ved 54° er den endnu noget stærkere end ved 50°, men i Intervallet 54°—63° er der ikke nogen kjendelig Forskjel i Virkningen; for



Indvirkning af 8 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 15 Minutter ved variabel Temperatur.

saavidt Forskjel kan iagttages, er der endnu en svag Stigning af Kurven indtil 63°. Dette er den kritiske Varmegrad for Diastasen, idet Virkningen nu, naar Temperaturen stiger højere, aftager overordentlig hurtigt. Medens Reduktionen saaledes ved 63° er 42, er den allerede ved 64° sunken til 40, ved $66^1/_2$° til 34, ved 70° til 18 o. s. v. Den højeste Temperatur, hvorved der blev anstillet Forsøg, var 78°, hvor vi finde en Reduktion = 7. Det paafølgende Stykke af Kurven er derfor kun punkteret, den synes at maatte løbe ud ved c. 85°.

At der over 63° finder en stærk Nedgang Sted i Diastasens Virkning, er allerede fremhævet af O'Sullivan. Derimod sige hans Forsøg os ikke noget om, hvilken Temperatur under 63° der maa betragtes som den heldigste, og vi vide jo dog, at Virkningen ikke kan være ens ved alle Temperaturer under dette Punkt. Den her tegnede Kurve giver os derimod Svar paa dette Spørgsmaal, idet den viser det ret mærkelige Faktum, at Optimum netop ligger paa selve denne Grændsetemperatur 63°; dog kan man godt regne hele

Intervallet 54°—63° for Optimum. Derimod er Virkningen ved 6—7° over 63° allerede sunken til det halve. Fra 64°—70° skal Maltudtrækket efter O'Sullivan frembringe samme Mængde Sukker, svarende til R = 22. Ligesaa ved alle Temperaturer over 70°, hvor man skal finde R = 11. Denne Anskuelse synes mine Forsøg paa det bestemteste at modsige. Virkningen aftager over 63° meget hurtigt, men aldeles jævnt, uden Spring, og Virkningerne ved 64° og 68° ere lige saa indbyrdes forskjellige, som de ved 68° og 72°. Jeg havde i Overensstemmelse med O'Sullivans Anskuelser ventet paa Kurven at finde et Spring nedad ved 63°, dernæst en næsten vandret Linie henimod 70°, saa atter et Spring nedad og saa atter en vandret Linie, men Kurven viser, som man vil se, ikke mindste Antydning til sligt; ved at betragte de efter Forsøgene anlagte Punkter, vil man se, at de passe meget naturligt ind i den Linie, som forbinder dem.

Naar Temperaturen synker under 50°, finder der, som sagt, en stærk Aftagen Sted i Fermentvirksomheden. Da dette Stykke af Kurven ikke er saa karakteristisk som det over 63°, har man ikke behøvet at bestemme saa mange Punkter deri. Den laveste Temperatur, hvorved jeg har anstillet Forsøg, er 18½° (almindelig Stue-Temperatur), hvorved der endnu fremkom en Reduktion paa 17,8; dog maa jeg her atter fremhæve, at Eftervirkningen under Afkogningen kan medføre en kjendelig Fejl, naar Forsøgene anstilles ved saa lave Temperaturer. Denne Del af Kurven ligger derfor maaske lidt for højt.

Det synes, som om der er en Forskjel paa den Omdannelse af Stivelsen, der finder Sted over og under 63°, foruden den blot kvantitative. Man vil af Kurven finde, at Sukkerdannelsen i Løbet af 15 Minutter er omtrent ens ved 20° og 70°, og man kunde maaske deraf fristes til at tro, at Diastasens Virkning paa Stivelseklister ved disse to Temperaturer i det hele taget var den samme. Men ved at anstille Forsøgene ved de to Temperaturer, vil Forskjellen mellem Virkningerne være iøjnefaldende nok; ved 20° skrider Opløsningen langsomt fremad, Vædsken holder sig længe tyk og klumpet og er endnu efter Forløbet af de 15 Minutter i høj Grad uklar. Ved 70° finder Opløsningen Sted saa godt som øjeblikkelig, og Vædsken bliver hurtigt næsten ganske klar; ja selv ved endnu højere Temperaturer, 75° og 80°, hvor Sukkerdannelsen er i høj Grad tilbagetrængt, finder Opløsningen endnu meget hurtigt Sted, og Vædsken klarer sig godt. Jeg vil paa et senere Punkt komme tilbage til dette Spørgsmaal.

Om den Farvning, som Jod frembringer i Vædsken, blev det i forrige Afsnit bemærket, at den stod i et bestemt Forhold til Reduktionsevnen, saaledes, at efterhaanden som denne tiltog, blev Farven bestandig svagere; dog fik vi først en ren gul Jodreaktion, naar Reduktionsevnen omtrent havde naaet sit Maximum 44. De ufuldstændige Sukkerdannelser og Opløsningernes dertil svarende Evne til at farves af Jod vare ved Forsøgene i foregaaende Afsnit en Følge af Anvendelsen af utilstrækkelige Mængder Diastase. I dette Kapitel have vi set, at 8 Kub. Cent. Maltudtræk, der ved 63° kan bringe Reduktionen op til 42, ved 66½° kun giver R = 34 og ved 70° R = 18. Her have vi altsaa med samme Mængde Diastaseopløsning frembragt en Reduktionsevne, der snart var nær den maximale, snart mer eller mindre ufuldstændig. Det viste sig nu, at den ved 66½° fremstillede Opløsning gav en brun Jodreaktion, der ved 70° fremstillede en blaa. Man ser altsaa, at Jodreaktionen ogsaa her staar i et bestemt Forhold til Sukkerdannelsens Omfang; vi faa altid Farvning ved Opløsninger med lavere Reduktionsevne, hvad enten denne skyldes Anvendelsen af utilstrækkeligt Maltudtræk eller højere Temperatur. O'Sullivan siger, at de Opløsninger, han fremstillede ved 64—70° og over 70°, ingen Jodreaktion gave, skjøndt Reduktionsevnen kun var 22 og 11; jeg har, som sagt, aldrig kunnet tilvejebringe Opløsninger med saa ringe Indhold af Sukker, uden at de tillige gave stærk Farve med Jod.

III.

Indflydelsen af Reaktionens Varighed paa Sukkerdannelsen.

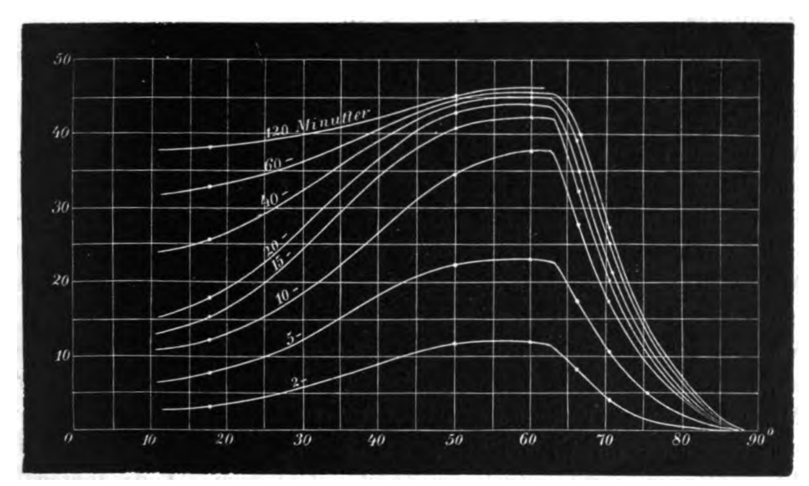
Ved at lade den samme Mængde Maltudtræk indvirke paa den samme Mængde Stivelse ved samme Temperatur, men i de forskjellige Forsøg fortsætte Digestionen ulige længe, faar man Oplysning om, hvilket Forhold Sukkerdannelsen staar i til den Tid, hvori Reaktionen fortsættes. I de herhen hørende Forsøg er der ligesom i de foregaaende benyttet 10 Grm. Stivelse og 8 Kub. Cent. Maltudtræk hver Gang. Med Hensyn til den tredie af de konstante Faktorer, Temperaturen, var det at forudse, at det Forhold, som bestaar mellem Sukkerdannelsens Omfang og Reaktionens Varighed, vilde være forskjelligt, eftersom Processen foregik ved den ene eller den anden Temperatur. Det var derfor nødvendigt her at anstille et større Antal Forsøgsrækker ved forskjellige Temperaturer, saaledes at denne holdtes konstant indenfor hver enkelt. Jeg har udført 5 saadanne Rækker, nemlig ved 18°, 50°, 61°, 66½° og 70½°. De fundne Resultater ere som sædvanlig benyttede til

dermed at konstruere Kurver, hvis Ordinater ligesom tidligere betegne Reduktionsevne, og hvis Abscisser er Reaktionens Varighed i Minutter. Paa hver Kurve er angivet den Temperatur, hvortil den svarer.

Indvirkning af 8 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse ved 18°, 50°, 61°, 66½° og 70½° i variabel Tid.

Man vil heraf strax se, at Forholdet stiller sig noget forskjelligt, eftersom Reaktionen finder Sted ved Optimumstemperaturen og derover, eller ved lavere Varmegrader. I første Tilfælde indtræder Sukkerdannelsen meget hurtigt i sit fulde Omfang; som det ifølge det tidligere Udviklede var at forudse, er det Omfang, den overhovedet naar, meget forskjelligt, eftersom Omdannelsen sker ved 50—63°, 66½° eller 70½°; men de til disse Temperaturer svarende Kurver ere dog forsaavidt ensartede, som den største Del af Reaktionen ved dem alle er forbi efter Forløbet af ca. 20 Minutter eller lidt mere; en yderligere Forlængelse af Digestionen frembringer kun en langsom Forøgelse af Sukkermængden; navnlig gjælder dette ved Temperaturer i Nærheden af Optimum. Anderledes stiller

Forholdet sig ved de lave Temperaturer; i Kurven for 18° finde vi saaledes en jævn Stigning i Løbet af den første Time, og selv efter saa lang Tid frembringer en fortsat Digestion (2 Timer) en ret betydelig Forøgelse af Sukkermængden. Ved en Digestion paa 10 Minutter vil der saaledes dannes betydeligt mindre Sukker ved 18° end ved 70½°; fortsættes Digestionen i en halv Time, er Sukkerdannelsen lige stor ved begge disse Temperaturer, fortsættes den endelig i en Time eller endnu længere, har Virkningen ved 18° et betydeligt Forspring for den ved 70½°. Ved meget lang Digestion synes man altsaa ogsaa ved alle Temperaturer under Optimum at kunne naa op til den samme Sukkerdannelse som ved dette, og Virkningen af Diastasen for saavidt at være ens ved alle Temperaturer under 63°, som Sukkerdannelsen ved dem alle kan naa samme Omfang, og Forskjellen kun ligger i den forskjellige Hurtighed, hvormed dette opnaas. De 2 øverste Kurver vise, at det ogsaa med Hensyn til Hurtigheden, hvormed Sukkerdannelsen indtræder, kun gjør meget ringe Forskjel, om man opererer ved 50° eller 61°. Angaaende den ved 18° anstillede Forsøgsrække skal dog bemærkes, at den tidligere berørte Fejl, som hidrører fra Diastasens Virkning under Afkogningen, naturligvis faar særlig stor Betydning ved Bestemmelsen af denne Kurve, navnlig af dens første Punkter. Det vil ogsaa strax ses, at den første Del af denne Kurve har et mindre regelmæssigt Forløb og saa at sige bærer Præget paa sig af den omtalte Fejl. Da denne foranlediger, at Sukkermængden findes større, end den skulde, maa Punkterne i denne Del af Kurven



Indvirkning af 8 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60 og 120 Minutter ved variabel Temperatur.

Intervallet 54°—63° for Optimum. Derimod er Virkningen ved 6—7° over 63° allerede sunken til det halve. Fra 64°—70° skal Maltudtrækket efter O'Sullivan frembringe samme Mængde Sukker, svarende til R = 22. Ligesaa ved alle Temperaturer over 70°, hvor man skal finde R = 11. Denne Anskuelse synes mine Forsøg paa det bestemteste at modsige. Virkningen aftager over 63° meget hurtigt, men aldeles jævnt, uden Spring, og Virkningerne ved 64° og 68° ere lige saa indbyrdes forskjellige, som de ved 68° og 72°. Jeg havde i Overensstemmelse med O'Sullivans Anskuelser ventet paa Kurven at finde et Spring nedad ved 63°, dernæst en næsten vandret Linie henimod 70°, saa atter et Spring nedad og saa atter en vandret Linie, men Kurven viser, som man vil se, ikke mindste Antydning til sligt; ved at betragte de efter Forsøgene anlagte Punkter, vil man se, at de passe meget naturligt ind i den Linie, som forbinder dem.

Naar Temperaturen synker under 50°, finder der, som sagt, en stærk Aftagen Sted i Fermentvirksomheden. Da dette Stykke af Kurven ikke er saa karakteristisk som det over 63°, har man ikke behøvet at bestemme saa mange Punkter deri. Den laveste Temperatur, hvorved jeg har anstillet Forsøg, er $18^1/_2$° (almindelig Stue-Temperatur), hvorved der endnu fremkom en Reduktion paa 17,8; dog maa jeg her atter fremhæve, at Eftervirkningen under Afkogningen kan medføre en kjendelig Fejl, naar Forsøgene anstilles ved saa lave Temperaturer. Denne Del af Kurven ligger derfor maaske lidt for højt.

Det synes, som om der er en Forskjel paa den Omdannelse af Stivelsen, der finder Sted over og under 63°, foruden den blot kvantitative. Man vil af Kurven finde, at Sukkerdannelsen i Løbet af 15 Minutter er omtrent ens ved 20° og 70°, og man kunde maaske deraf fristes til at tro, at Diastasens Virkning paa Stivelseklister ved disse to Temperaturer i det hele taget var den samme. Men ved at anstille Forsøgene ved de to Temperaturer, vil Forskjellen mellem Virkningerne være iøjnefaldende nok; ved 20° skrider Opløsningen langsomt fremad, Vædsken holder sig længe tyk og klumpet og er endnu efter Forløbet af de 15 Minutter i høj Grad uklar. Ved 70° finder Opløsningen Sted saa godt som øjeblikkelig, og Vædsken bliver hurtigt næsten ganske klar; ja selv ved endnu højere Temperaturer, 75° og 80°, hvor Sukkerdannelsen er i høj Grad tilbagetrængt, finder Opløsningen endnu meget hurtigt Sted, og Vædsken klarer sig godt. Jeg vil paa et senere Punkt komme tilbage til dette Spørgsmaal.

Om den Farvning, som Jod frembringer i Vædsken, blev det i forrige Afsnit bemærket, at den stod i et bestemt Forhold til Reduktionsevnen, saaledes, at efterhaanden som denne tiltog, blev Farven bestandig svagere; dog fik vi først en ren gul Jodreaktion, naar Reduktionsevnen omtrent havde naaet sit Maximum 44. De ufuldstændige Sukkerdannelser og Opløsningernes dertil svarende Evne til at farves af Jod vare ved Forsøgene i foregaaende Afsnit en Følge af Anvendelsen af utilstrækkelige Mængder Diastase. I dette Kapitel have vi set, at 8 Kub. Cent. Maltudtræk, der ved 63° kan bringe Reduktionen op til 42, ved 66½° kun giver R = 34 og ved 70° R = 18. Her have vi altsaa med samme Mængde Diastaseopløsning frembragt en Reduktionsevne, der snart var nær den maximale, snart mer eller mindre ufuldstændig. Det viste sig nu, at den ved 66½° fremstillede Opløsning gav en brun Jodreaktion, der ved 70° fremstillede en blaa. Man ser altsaa, at Jodreaktionen ogsaa her staar i et bestemt Forhold til Sukkerdannelsens Omfang; vi faa altid Farvning ved Opløsninger med lavere Reduktionsevne, hvad enten denne skyldes Anvendelsen af utilstrækkeligt Maltudtræk eller højere Temperatur. O'Sullivan siger, at de Opløsninger, han fremstillede ved 64—70° og over 70°, ingen Jodreaktion gave, skjøndt Reduktionsevnen kun var 22 og 11; jeg har, som sagt, aldrig kunnet tilvejebringe Opløsninger med saa ringe Indhold af Sukker, uden at de tillige gave stærk Farve med Jod.

III.

Indflydelsen af Reaktionens Varighed paa Sukkerdannelsen.

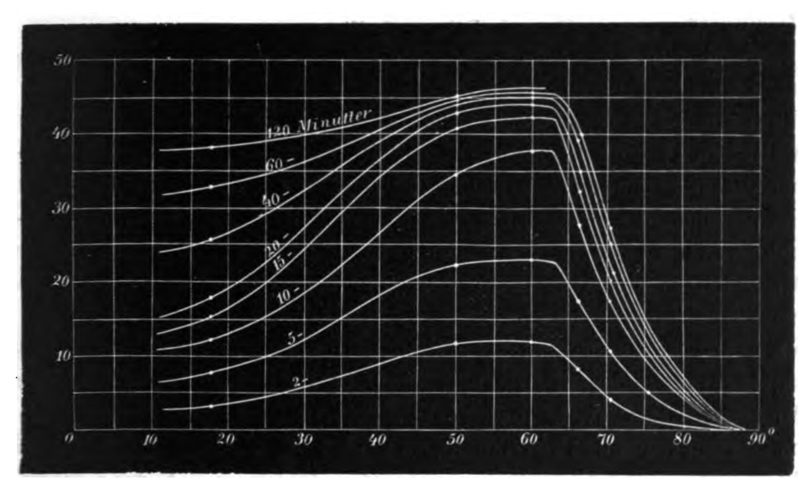
Ved at lade den samme Mængde Maltudtræk indvirke paa den samme Mængde Stivelse ved samme Temperatur, men i de forskjellige Forsøg fortsætte Digestionen ulige længe, faar man Oplysning om, hvilket Forhold Sukkerdannelsen staar i til den Tid, hvori Reaktionen fortsættes. I de herhen hørende Forsøg er der ligesom i de foregaaende benyttet 10 Grm. Stivelse og 8 Kub. Cent. Maltudtræk hver Gang. Med Hensyn til den tredie af de konstante Faktorer, Temperaturen, var det at forudse, at det Forhold, som bestaar mellem Sukkerdannelsens Omfang og Reaktionens Varighed, vilde være forskjelligt, eftersom Processen foregik ved den ene eller den anden Temperatur. Det var derfor nødvendigt her at anstille et større Antal Forsøgsrækker ved forskjellige Temperaturer, saaledes at denne holdtes konstant indenfor hver enkelt. Jeg har udført 5 saadanne Rækker, nemlig ved 18°, 50°, 61°, 66½° og 70½°. De fundne Resultater ere som sædvanlig benyttede til

dermed at konstruere Kurver, hvis Ordinater ligesom tidligere betegne Reduktionsevne, og hvis Abscisser er Reaktionens Varighed i Minutter. Paa hver Kurve er angivet den Temperatur, hvortil den svarer.

Indvirkning af 8 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse ved 18^0, 50^0, 61^0, 66$^1/_2$^{0} og 70$^1/_2$^{0} i variabel Tid.

Man vil heraf strax se, at Forholdet stiller sig noget forskjelligt, eftersom Reaktionen finder Sted ved Optimumstemperaturen og derover, eller ved lavere Varmegrader. I første Tilfælde indtræder Sukkerdannelsen meget hurtigt i sit fulde Omfang; som det ifølge det tidligere Udviklede var at forudse, er det Omfang, den overhovedet naar, meget forskjelligt, eftersom Omdannelsen sker ved 50—63^0, 66$^1/_2$^{0} eller 70$^1/_2$^{0}; men de til disse Temperaturer svarende Kurver ere dog forsaavidt ensartede, som den største Del af Reaktionen ved dem alle er forbi efter Forløbet af ca. 20 Minutter eller lidt mere; en yderligere Forlængelse af Digestionen frembringer kun en langsom Forøgelse af Sukkermængden; navnlig gjælder dette ved Temperaturer i Nærheden af Optimum. Anderledes stiller

Forholdet sig ved de lave Temperaturer; i Kurven for 18° finde vi saaledes en jævn Stigning i Løbet af den første Time, og selv efter saa lang Tid frembringer en fortsat Digestion (2 Timer) en ret betydelig Forøgelse af Sukkermængden. Ved en Digestion paa 10 Minutter vil der saaledes dannes betydeligt mindre Sukker ved 18° end ved 70½°; fortsættes Digestionen i en halv Time, er Sukkerdannelsen lige stor ved begge disse Temperaturer, fortsættes den endelig i en Time eller endnu længere, har Virkningen ved 18° et betydeligt Forspring for den ved 70½°. Ved meget lang Digestion synes man altsaa ogsaa ved alle Temperaturer under Optimum at kunne naa op til den samme Sukkerdannelse som ved dette, og Virkningen af Diastasen for saavidt at være ens ved alle Temperaturer under 63°, som Sukkerdannelsen ved dem alle kan naa samme Omfang, og Forskjellen kun ligger i den forskjellige Hurtighed, hvormed dette opnaas. De 2 øverste Kurver vise, at det ogsaa med Hensyn til Hurtigheden, hvormed Sukkerdannelsen indtræder, kun gjør meget ringe Forskjel, om man opererer ved 50° eller 61°. Angaaende den ved 18° anstillede Forsøgsrække skal dog bemærkes, at den tidligere berørte Fejl, som hidrører fra Diastasens Virkning under Afkogningen, naturligvis faar særlig stor Betydning ved Bestemmelsen af denne Kurve, navnlig af dens første Punkter. Det vil ogsaa strax ses, at den første Del af denne Kurve har et mindre regelmæssigt Forløb og saa at sige bærer Præget paa sig af den omtalte Fejl. Da denne foranlediger, at Sukkermængden findes større, end den skulde, maa Punkterne i denne Del af Kurven

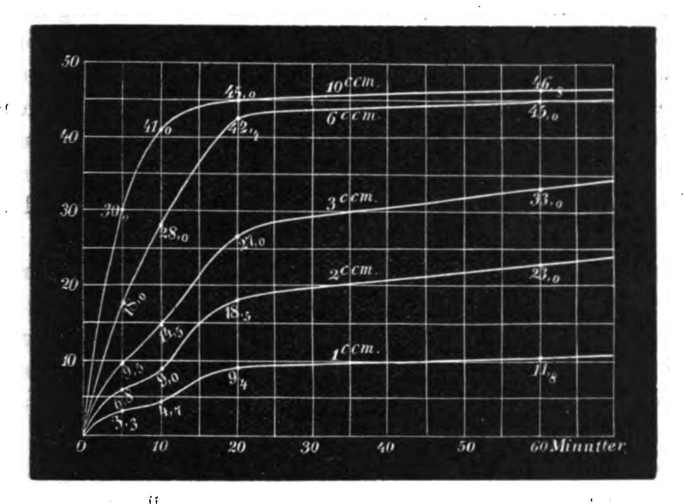


Indvirkning af 8 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse i 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60 og 120 Minutter ved variabel Temperatur.

altsaa ligge for højt, og den nedenunder punkterede, med (18°) markerede Kurve vil derfor maaske svare nærmere til den Reaktion, der i Virkeligheden finder Sted ved denne Temperatur. Efter at have konstrueret et Antal »Tidskurver« for forskjellige Varmegrader, kan man bruge disse til deraf at konstruere forskjellige »Varmekurver« for forskjellige Tider. Paa Planen pag. 143 ere disse Kurver anlagte. Ligesom pag. 139 ere her Reduktionerne Ordinater, og Varmegraderne Abscisser. Tiden er forskjellig for de forskjellige Kurver, men konstant for hver enkelt, og paa hver finder man noteret den Tid i Minutter, hvortil den svarer. Med Hensyn til Stykket under 63° ses det, at dette, som for Tiden 0 er = Abscisseaxen, ved meget lang Digestion nærmer sig til atter at blive parallel med denne (jvfr. Kurven for 120 Minutter). Ved 15—20 Minutters Digestion ere Stykkerne stejlest, og Kurverne for disse to Tider parallele. Med Hensyn til Stykket over 63° er der ikke noget særligt at bemærke; det bliver kun med den voxende Tid stedse stejlere. Denne Gruppe af Kurver frembyder et godt Exempel paa den grafiske Fremstillings store Fordele ved slige Undersøgelser. Nøjes man med at nedskrive Resultaterne som Tal eller, hvad der er det samme, anlægger man dem som isolerede Punkter i Koordinatsystemet, ville Analyserne tilsyneladende danne et Kaos, hvori man vil have stor Vanskelighed ved at finde Traaden, medens man, efter at have forbundet de sammenhørende Punkter ved Kurver, strax maa blive opmærksom paa den simple Sammenhæng, der i Virkeligheden findes mellem de forskjellige Resultater.

Ved alle de ovenstaaende Forsøg er der, som tidligere bemærket, brugt 8 Kub. Cent. Maltudtræk hver Gang. Det var vel ikke muligt at gennemføre alle disse Forsøg med et og samme Maltudtræk; de ere udførte ved Hjælp af 2, der dog bleve tilberedte af samme Malt paa ganske samme Maade, og som ogsaa ved Forsøg med deres Virkning paa Stivelseklister under samme Forhold viste sig saa ens, at man uden kjendelige Fejl kan sige, at Mængden af det tilførte Ferment har været den samme i alle de nævnte Forsøg. Det forekom mig imidlertid ogsaa at være af Vigtighed at undersøge, hvorledes Forholdet stillede sig ved forskjellige Mængder af Diastase, navnlig for at se, hvorvidt smaa Mængder heraf »virkede færdig« i samme Tid som større. Det maatte anses for tilstrækkeligt at anstille disse Forsøg ved én Temperatur, hvortil naturligvis valgtes Optimum. I de følgende Forsøgsrækker, i hvilke Reaktionens Varighed er den variable Størrelse, er Sukkerdannelsen altid foregaaet ved den samme

Temperatur, nemlig 56°. Mængden af det anvendte Maltudtræk er ligeledes konstant indenfor hver enkelt Forsøgsrække, men derimod forskjellig i de forskjellige Rækker; — som sædvanlig ere Resultaterne fremstillede grafisk ved Kurver, der have Reduktionerne til Ordinater og Tiderne (i Minutter) til Abscisser; — paa hver Kurve finder man noteret den Mængde Maltudtræk, hvortil de svarer. — Der er her givet Kurver, som fremstille Virkningen af 1, 2, 3, 6 og 10 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse ved 56°, i Tider, som variere fra 5 til 60 Minutter.



Indvirkning af 1, 2, 3, 6 og 10 Kub. Cent. Maltudtræk paa 10 Grm. Stivelse ved 56° i variabel Tid.

Det vil ses ved Betragtning af disse Kurver, at Virkningen af alle disse forskjellige Mængder Maltudtræk, ligesom vi fandt det ved 8 Kub. Cent., i det Væsentlige er tilende efter 20 Minutters Forløb eller saa, og at der derfra indtil 60 Minutter, den længste Tid, hvori Forsøgene fortsattes, vel finder en stadig, men meget langsom, Forøgelse af Sukkermængden Sted. Det er dog en Selvfølge, at det i det hele taget kun er ved smaa Tilsætninger af Diastase, at den livlige Sukkerdannelse kan fortsættes gjennem 20 Minutter, nemlig ved saadanne Mængder, der overhovedet næppe ere i Stand til at bringe Reduktionen op til 44. Ved større Mængder Maltudtræk vil denne Reduktion allerede være naaet i kortere Tid end de 20 Minutter, og Sukkerdannelsen derefter i Resten af dette Tidsrum og fremdeles kun skride langsomt fremad. Vi se da ogsaa, at Kurven, der fremstiller Virkningen af 10 Kub. Cent. Maltudtræk, allerede har naaet 44 i Løbet af c. 15 Minutter, og at Virkningen der-

efter er ringe. Blandt de i Forsøgene brugte Mængder Maltudtræk har 6 Kub. Cent. netop været nok til at bringe Reduktionen op til henimod 44; her finde vi da ogsaa en ret kraftig Sukkerdannelse fortsat i ca. 20 Minutter. Ved 10 Kub. Cent. Maltudtræk maa altsaa Diastasen betragtes som værende tilstede i Overskud; dette Overskud kan ikke give Anledning til nogen synderlig Forøgelse i Mængden af det dannede Sukker; dets Virkning mærkes derimod ved Reaktionens hurtigere Forløb, idet denne allerede efter ca. 15 Minutter har naaet sin omtrentlige Afslutning. I Løbet af de første 20 Minutter i det højeste finder der altsaa en hurtig Sukkerdannelse Sted, som ved større Mængder af Maltudtræk foregaar nogenlunde jævnt, saa at Sukkerdannelsen idetmindste tilnærmelsesvis er proportional med den forløbne Tid. Ved smaa Mængder af Maltudtræk viser dette Stykke af Kurven derimod en besynderlig Uregelmæssighed; Kurverne vise nemlig et partielt Minimum for Abscissen 10, et Minimum, der er meget paafaldende ved Kurverne for 1 og 2 Kub. Cent. Maltudtræk, kjendeligt ved 3 Kub. Cent., men neppe mere til at iagttage ved Kurven for 6 Kub. Cent. Grunden til dette Forhold er mig ikke ganske klar; for saavidt Vædsken endnu efter 5—10 Minutters Forløb indeholder ikke opløst Klister, kan man jo nok forklare sig, at Virkningen paa de ikke ganske homogene Klumper kunde foregaa noget stødvis; men som oftest vare selv de mindste her benyttede Mængder af Maltudtræk istand til at frembringe en fuldstændig Opløsning i Løbet af et Par Minutter.

Vi have nu undersøgt Indflydelsen af Fermentets Mængde, Temperaturen, hvorunder det virker, og Tiden, som Reaktionen varer, paa Mængden af det dannede Sukker. Vi have opnaaet dette ved at lade den ene af disse tre Faktorer variere, medens de to andre forbleve uforandrede. Den 4de Faktor, som kommer i Betragtning, er Koncentrationen af den Opløsning, hvori Diastasen virker; denne er gjennem alle de foregaaende Forsøgsrækker konstant, da Mængden af Stivelse i alle Forsøgene har været den samme, nemlig 10 Grm. (eller 8,1 Grm., tørret ved 100°), og Rumfanget af den deraf dannede Klister ikke nogensinde har afveget betydeligt fra 200 Kub. Cent. Der staar altsaa tilbage at undersøge, hvilken Indflydelse en forskjellig Koncentration af Klisteren kan have paa den Mængde af Sukker, som dannes ved samme Mængde Diastase, som virker under samme Temperatur og i samme Tid. Da de hertil sigtende Forsøg imidlertid ere udførte paa en fra de foregaaende noget forskjellig Maade, ville de blive meddelte i et særskilt Afsnit (pag. 163).

Maaling af Fermentevne.

Principet for den relative Bestemmelse af Diastasemængden er tidligere udviklet (jvfr. pag. 134); det er ved at lade den fermentholdige Opløsning frembringe en fuldstændig Sukkerdannelse i Stivelseklister og bestemme Mængden af det herved opstaaede Sukker, at man kan gjøre Slutninger om Opløsningens Rigdom paa Diastase.

Man kan i Virkeligheden herved gaa frem ganske som pag. 134. Lad os saaledes tillave 2 Portioner Klister, hver med 10 Grm. Stivelse og 200 Grm. Vand, ligesom i de foregaaende Forsøg, og efterat Temperaturen er sunken til 62 à 55°, anbringe dem i Vandbadet, der holdes paa 60°. Af to Prøver Malt, som vi ville undersøge, have vi fremstillet 2 Koldtvandsudtræk, tilberedte paa ens Maade af 1 Del Malt og 4 Dele Vand. Heraf sætte vi 4 Kub.-Cent. til hver Portion Klister. Efter 10 Minutters Forløb afbryde vi Sukkerdannelsen ved Afkogning, afkøle og fylde op til 250 Kub.-Cent. Sukkermængden i de to Opløsninger være nu 0,489% og 0,668%, Tørstofmængden (beregnet efter Vægtfylden) i begge Tilfælde 3,26%. Reduktionsevnen vil da være henholdsvis $\frac{48,9}{3,26} = 15$ og $\frac{66,8}{3,26} = 20,5$, og de to Maltudtræks Fermentevne vil altsaa forholde sig omtrent som 15 : 20,5, eller, mere nøjagtigt, som de til disse Ordinater paa Kurven pag. 133 svarende Abscisser, nemlig henholdsvis 2,9 og 4,2. Det nøjagtige Forhold mellem de to undersøgte Opløsninger bliver altsaa 2,9 : 4,2 = 15 : 21,7. Hvis vi vilde sætte Virkningen af det til Kurven pag. 133 benyttede Maltudtræk = 100, frembringe de to her omtalte Udtræk Virkninger paa 72,5 og 105, idet 2,9 : 4,2 : 4 = 72,5 : 105 : 100.

Den her udviklede Fremgangsmaade er imidlertid temmelig ubekvem, da det stjæler megen Tid hver Gang at skulle tilberede Klisteren og vente, til den er afkølet tilstrækkeligt, ligesom det heller ikke er saa let at faa en ensartet Temperatur i den tykflydende Masse. Det ligger da nær paa én Gang at opløse en større Mængde Klister ved Indvirkning af en forholdsvis lille Portion Maltudtræk, hvorved vi faa en tyndflydende Vædske, som dog kun indeholder en ringe Mængde Sukker. Efter at denne Vædske havde været kogt og atter var bleven afkølet, maatte man nøjagtig bestemme dens Vægtfylde og Sukkerrigdom og kunde nu bruge den til Forsøgene, idet man maalte sig et bestemt Rumfang, f. Ex. 200 Kub.-Cent., af til hvert Forsøg og ved Tilsætning af det Maltudtræk, der skulde undersøges, fremkaldte en ny Sukkerdannelse. Virkningen af Maltudtrækket vilde da kunne bestemmes ved Mængden

af Sukker efter Forsøget minus det, som iforvejen var tilstede i Vædsken, eller med andre Ord af Sukkertilvæxten.

At det er tilladt at overføre de ovenfor udviklede Principer for Diastasemaaling paa denne saaledes modificerede Methode, fremgaar af Forsøget pag. 136, som viser, at Sukkerdannelsen bliver den samme, hvad enten Forsøget udføres i to Afsnit eller i et. Forholdet bliver kun dette, at vi i Kurven pag. 133 flytte Koordinatsystemets Axer parallelt med dem selv, saaledes at Begyndelsespunktet kommer til et andet Punkt i Kurven, f. Ex. til 10.

Med Hensyn til Tilberedningen af en slig »Forsøgsvædske« er der dog endnu noget at bemærke. Man vilde her kunne vælge, enten at opløse Klisteren med saa lidet Maltudtræk som muligt, idet man lader dette virke ved Optimumstemperaturen; eller man kunde benytte en større Mængde Maltudtræk, men ved at lade Opløsningen finde Sted ved en Temperatur, der nærmede sig Diastasens Virksomhedsgrændse, sørge for, at Sukkerdannelsen ikke kunde blive stor. Den første Fremgangsmaade, hvorved Opløsningen næsten kun kommer til at indeholde Stoffer, der stamme fra Stivelsen, forekom mig fra Begyndelsen at være den nærmest liggende, men, som vi skulle se, er den dog ikke at foretrække.

500 Grm. Stivelse blev, efter at være omdannet til Klister, behandlet ved c. 55° med 50 Kub.-Cent. Maltudtræk af sædvanlig Styrke. Denne ringe Mængde var tilstrækkelig til at bringe Stivelsen i Opløsning i Løbet af faa Minutter. Digestionen blev fortsat i 20 Minutter, Vædsken dernæst kogt, afkølet og fortyndet med Vand, til den udgjorde 10 Litr. Tørstofmængden var da 4,1 %; heraf stamme kun 0,03 % fra Maltudtrækket, 4,07 % fra Stivelsen; Sukkermængden var 0,448 %, hvoraf 0,43 % fra Stivelsen; Reduktionsevnen er altsaa $\frac{43}{4,07} = 10{,}6$. Opløsningen, som i Varmen var ret klar, »satte Skind« under Afkølingen, og efter at være bleven kold, havde den ganske Udseende af Mælk. Med Hensyn til det mikroskopiske Udseende af det saaledes udskilte viste det sig dels som uregelmæssig traadede Legemer, dels og hyppigst som yderst smaa runde Korn, langt mindre end de af W. Nägeli beskrevne Amylodextrin-Skiver[1]). Den var endnu ret tyndflydende, men ved længere Henstand blev den bestandig mere og mere tyk. Dels af denne Grund, og endnu mere fordi der viste sig visse mindre Uregelmæssigheder ved de Sukkerdannelses-Forsøg, der udførtes paa denne Vædske, maa den anses for mindre tjenlig til sit Formaal.

---

[1]) W. Nägeli: Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe, p. 15.

Bedre Resultater opnaas ved at følge den anden af de angivne Fremgangsmaader, nemlig at anvende mere Maltudtræk, men lade Virkningen foregaa ved en høj Temperatur: 250 Grm. Stivelse blev omdannet til Klister i en Kasserolle, som derpaa blev anbragt i det pag. 125 beskrevne Vandbad; ved at bringe Vandet heri i Kog, fik man Klisterens Temperatur op til 80°, uden at behøve at fortynde denne stærkt ved Tilsætning af kogende Vand eller at frygte for nogen Paabrænding. Ved denne Temperatur blev der nu tilsat 200 Kub.-Cent. Maltudtræk, som i Forvejen var opvarmet til 60—65°. Opløsningen finder hurtigt Sted, og Vædsken holdes nu paa en Temperatur af 78—80° i c. 20 Minutter. Den bliver nu kogt og er i Varmen næsten ganske klar; ved Afkøling bliver den vel lidt uklar, men denne Uklarhed lader sig, om end vanskeligt, fjærne fuldstændigt ved Filtrering, medens den forrige, mælkeagtige Vædske aldeles ikke lod sig filtrere. Den klart filtrerede Vædske blev nu fortyndet med Vand i et saadant Forhold, at Styrken blev $3{,}30$ %, hvoraf $3{,}16$ % fra Stivelsen, Sukkermængden $0{,}318$ %, hvoraf $0{,}265$ % fra Stivelsen[1]). Reduktionsevnen er altsaa her kun $\frac{26{,}5}{3{,}16} = 8{,}4$. Ved den mælkeagtige Forsøgsvædske, der var fremstillet ved 55°, fandt vi $R = 10{,}6$; Sukkerdannelsen havde altsaa vundet et større Omfang end i den sidst omtalte, ved 78—80° fremstillede Forsøgsvædske, skjønt denne var næsten klar og holdt sig saaledes i lang Tid, og Opløsningen altsaa syntes at være skreden videre frem end i det andet Tilfælde; en ny Antydning af det pag. 140 fremhævede Forhold, at Produkterne af Stivelsens Opløsning synes at være noget forskjellige, eftersom denne finder Sted over eller under det kritiske Punkt, 63°.

Kurven pag. 151 viser Sukkerdannelsen ved Diastase i en saadan Vædske. Forsøgene anstilledes paa lignende Maade som i første Afsnit, kun at man, istedetfor at afveje 10 Grm. Stivelse og deraf tilberede 200 Kub.-Cent. Klister, simpelthen afmaalte 200 Kub.-Cent. (eller 100) Forsøgsvædske til hvert Forsøg. Angaaende den Temperatur, der bør fastsættes som fælles for alle Forsøg, er der naturligvis ingen Tvivl om, at denne bør være Optimum; man har ved denne tilmed den store Fordel, at man ikke behøver at holde den konstant indenfor meget

[1]) Efter Fortynding fra 200 til 250 Kub.-Cent. vil den altsaa indeholde $2{,}65$ %; Koncentrationen var saaledes noget mindre, end Tilfældet var med Forsøgene i første Afsnit, hvor Opløsningerne efter Fortynding til $^1/_4$ Litr. viste ca. $3{,}30$ %. At dette er uden Indflydelse paa Resultaterne vil ses af Afsnittet »Koncentrationens Indflydelse osv.« (p. 163.)

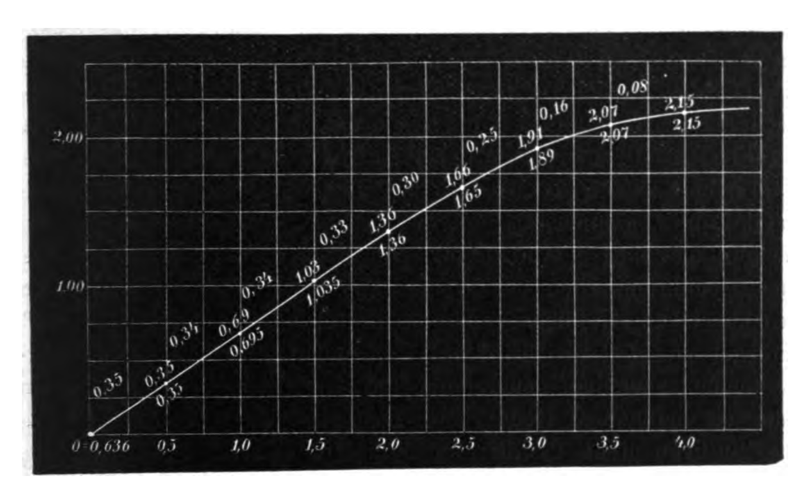


snævre Grændser, da en Forskjel paa flere Grader ikke har noget at betyde, naar man bevæger sig mellem 55° og 63°. Jeg har næsten altid benyttet Temperaturerne 57—59°, ved hvilke Virkningen uden kjendelig Fejl kan siges at være paa sit Maximum; at gaa 63° altfor nær, er ikke raadeligt, da en lille Overskridelse af denne Temperatur, som tilfældig kunde finde Sted, som vist pag. 139, har en meget betydelig Formindskelse af Sukkerdannelsen til Følge. Forsøgsvædsken blev altsaa opvarmet til c. 60°, dernæst anbragt i Vandbadet (Fig. 1), og Maltudtrækket, der ikke var blevet forudvarmet, sat til. Angaaende den Tid, i hvilken man mest hensigtsmæssig bør fortsætte Digestionen, kan man finde Oplysning ved Betragtning af Kurverne pag. 145. De sige, at Virkningen af forskjellige Mængder Maltudtræk er tilende efter omtrent 20 Minutters Forløb. Det vil derfor være heldigst at fortsætte Digestionen saalænge; at bruge længere Tid vilde være overflødigt, at afbryde den tidligere vilde bevirke, at en lille Fejl i Tiden vilde faa en kjendelig Indflydelse paa Resultatet. I alle de efterfølgende Forsøg er Sukkerdannelsen altsaa foregaaet ved 57—59° i 20 Minutter. Til vort Formaal her vilde det være overflødigt i hvert Forsøg at beregne Tørstoffets Reduktionsevne, hvortil der kræves en Vægtfyldebestemmelse; man kan ligesaa godt opsøge det Forhold, der finder Sted mellem Diastasemængden og Mængden af det dannede Sukker. I de første af de følgende Forsøgsrækker er der taget 200 Kub.-Cent. hver Gang, som sluttelig suppleredes til 1/4 Litr. i Analogi med Forsøgene i første Afsnit. Senere har jeg, for at spare paa Forsøgsvædsken, kun taget 100 Kub.-Cent., som, for at kunne skylle Bægerglassene tilstrækkeligt af, blev suppleret til 130 istedetfor til 125 Kub.-Cent. Fortyndingen har altsaa ikke været den samme i alle Tilfælde, og man maatte derfor, for at Forsøgene kunde sammenlignes, ikke anføre de Procenttal, som Analyserne give, men den totale Sukkermængde, som deraf kunde beregnes. Exempel: I et Forsøg, hvor 0,5 Kub.-Cent. Maltudtræk indvirkede paa 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske, fandt man efter Supplering til 1/4 Litr. 0,400 % Sukker, altsaa den hele Sukkermængde = 1,00 Grm; i 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske er der ialt 0,64 Grm. Sukker, den hele Tilvæxt er altsaa 0,36 Grm. I et andet Forsøg virkede den samme Mængde Maltudtræk, 0,5 Kub.-Cent., kun paa 100 Kub.-Cent. Forsøgsvædske; efter Fortynding til 130 Kub.-Cent. fandtes 0,523 % Sukker, den hele Mængde er altsaa 0,68 Grm., hvoraf 0,32 Grm. stammer fra Forsøgsvædsken. Sukkertilvæxten, som 0,5 Kub.-Cent. Maltudtræk i dette Tilfælde har foranlediget, er altsaa 0,36 Grm., ligesom i det første Forsøg.

Men denne Overensstemmelse vilde let undgaa Opmærksomheden, naar man kun havde anført Procenttallene 0,40 og 0,52.

I den hosstaaende Kurve betegne altsaa Abscisserne, som sædvanlig, Kub.-Centimeter Maltudtræk, Ordinaterne derimod ikke Reduktionsevne, men den samlede, ved den tilsvarende Mængde Maltudtræk frembragte, Sukkermængde i Gram. Som vist pag. 131, tiltager Tørstofmængden lidt, eftersom Sukkerdannelsen skrider frem; Reduktionsevnen er derfor ikke ganske proportional med Sukkermængden, men tiltager i et lidt svagere Forhold; Kurverne, der ligefrem fremstille Sukkertilvæxterne, ville derfor være lidt svagere krummede mod Abscisseaxen og i deres første Del nærme sig endnu mere til den rette Linie end Kurverne pag. 132 og 133.

Ved de Punkter af Kurven, der ere bestemte ved Forsøg, finde vi 2 Tal, et under Kurven, som angiver den ved Analysen fundne Sukkertilvæxt i Gram, et andet over samme, som betegner den



Sukkertilvæxt ved Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske (filtreret).

efter Kurvens øvrige Forløb sandsynlige Mængde. Som vi se, er der ingensteds nogen kjendelig Afvigelse mellem de to Tal. Paa det mellem tvende slige Punkter liggende Stykke af Kurven findes der over denne et Tal, som angiver Stigningen paa dette Stykke eller Sukkertilvæxten for hver halve Kub.-Cent. Maltudtræk. Sukkertilvæxterne og deres Differenser ere:

			Sukkertilvæxt.	Differens.
0,5	Kub.-Cent.	Maltudtræk. . .	0,35 Grm.	0,35 Grm.
1,0	—	— . . .	0,69 —	0,34 —
1,5	—	— . . .	1,03 —	0,34 —
2,0	—	— . . .	1,36 —	0,33 —
2,5	—	— . . .	1,66 —	0,30 —
3,0	—	— . . .	1,91 —	0,25 —
3,5	—	— . . .	2,07 —	0,16 —
4,0	—	— . . .	2,15 —	0,08 —

Disse Tal vise tydeligt nok, at Loven om Proportionaliteten (pag. 134) er gjældende her, og Vædsken altsaa skikket til Diastasemaaling. Afvigelsen fra Loven begynder at blive kjendelig, naar vi gaa højere end til 2 Kub.-Cent. Maltudtræk, hvor vi omtrent have en Reduktionsevne R = 28. Pag. 134 er Grændsen for Loven angivet til R = 25—30.

Som anført pag. 149, indeholdt den her omtalte Forsøgsvædske 2,16 % Tørstof og 0,265 % Sukker fra Stivelsen. Beregnes denne Sukkermængde som Maltose, vil man finde, at Tørstoffet skulde indeholde 15 % Maltose og 85 % Dextrin. Hertil svarer efter O'Sullivan en Drejningsevne $(\alpha)_D = 184{,}5^0$; Iagttagelsen viste, efter at de behørige Korrektioner vare indførte, $(\alpha)_D = 185^0$. En lignende Maaling blev gjennemført for det Forsøg, hvor Sukkerdannelsen var foretaget med 4 Kub.-Cent. Maltudtræk; Tørstoffet skulde her efter Reduktionsevnen bestaa af 63 % Maltose og 37 % Dextrin. Den specifiske Drejningsevne, som svarer hertil, er $(\alpha)_D = 157^0$; Forsøget gav $(\alpha)_D = 158^0$[1]. Der er altsaa den bedste Overensstemmelse mellem den fundne optiske Virksomhed og den, som lader sig beregne af Reduktionsevnen, naar man holder sig til de af O'Sullivan givne Værdier for Drejningsevnen, $(\alpha)_D = 136^0$ for

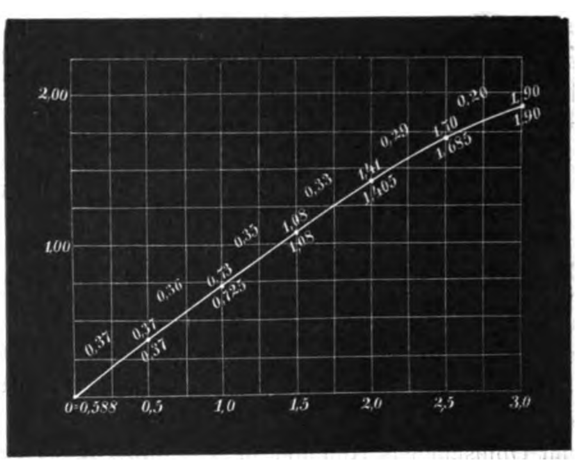
[1]) Disse Bestemmelser af Drejningsevnen ere udførte med et Halvskygge-Polarimeter efter Cornu-Jellets System (à pènombre), kjøbt 1878 hos Fr. Schmidt & Haensch i Berlin. Det frembyder, sammenlignet med det ældre Soleil'ske Apparat, store Fordele, saavel med Hensyn til Nøjagtighed, som ogsaa i andre Henseender. Noget uklare og farvede Opløsninger lade sig bedre undersøge i det nye Polarimeter, og et Apparat, som tillader at forøge Synsfeltets Lysstyrke, sætter en i Stand til at skaffe sig en omtrentlig Bestemmelse ved Opløsninger, der ere saa uklare, at de aldeles ikke lade sig undersøge i det Soleil'ske Instrument. Ved ufarvede og klare Opløsninger varierede de forskjellige Aflæsninger sjældent over 4 Minutter, saa at Middelfejlen altsaa bliver 2 Minutter = $0{,}03^0$ (c. $^1/_7{}^0$ Sol.).

Maltose og $(\alpha)_D = 193^0$ for Dextrin. I det ene Tilfælde gav Vædsken en dyb blaa Farve med Jod, i det andet en svag gul; naar man har faaet den rette Drejning ved i begge Tilfælde at antage $(\alpha)_D = 193^0$ for Dextrin, synes dette at støtte O'Sullivans Antagelse, at alle de Stoffer, som vi henføre til Gruppen »opløselig Stivelse og Dextrinarterne«, have samme Drejningsevne. Dog maa jeg bemærke, at de undersøgte Opløsninger jo rigtignok vare for svage, til at smaa Forskjelligheder i Drejningsevnen hos de nævnte Stoffer kunde komme tydeligt frem.

Den sidst omtalte Forsøgsvædske lader sig, som sagt, filtrere, men Filtrationen gaar langsomt for sig, og Filtrets Porer tilstoppes efterhaanden, saa at den ganske holder op, og Vædsken maa bringes over paa nye Filtre, o. s. v. Da denne Operation er besværlig og tidsspildende, blev det forsøgt, om Resultatet blev kjendeligt forandret, ved at undlade Filtrationen og altsaa benytte Vædsken i den noget uklare Tilstand, hvori man faar den efter Opløsning, Kogning og Afkøling. Der blev i dette Øjemed tilberedt et nyt Kvantum Forsøgsvædske, ved at opløse Klister af 250 Grm. Stivelse med 200 Kub.-Cent Maltudtræk ved 78—80^0 i 20 Minutter, ganske som ved den foregaaende. Efter Kogning og Afkøling blev Vædsken kun slaaet igjennem en fin Florsigte, for at tilbageholde smaa Klisterdele, som maatte være blevne uopløste. Efter at have bestemt Opløsningens Rumfang og Tørstofmængde (Vægtfylde), kunde man beregne, hvormeget Vand der maatte tilføjes, for at bringe Styrken ned til 3,30 %, ɔ: til den samme, som ved den forrige Forsøgsvædske; efter Tilsætning af denne Vandmængde og god Blanding viste Vædsken en Vægtfylde af 1,0275, svarende til 3,31 %, og en Sukkermængde = 0,294 %. Med denne Vædske blev der nu gjort Forsøg over Indvirkningen af forskjellige Mængder Maltudtræk, ganske paa samme Maade som ved den foregaaende. Omstaaende Kurve viser Resultatet af denne Forsøgsrække; Tallene paa Kurven have samme Betydning som ved den forrige. Sukkertilvæxterne og deres Differenser ere:

	Sukkertilvæxt.	Differens.
0,5 Kub.-Cent. Maltudtræk. . .	0,37 Grm.	0,37 Grm.
1,0 — — . . .	0,78 —	0,36 —
1,5 — — . . .	1,08 —	0,35 —
2,0 — — . . .	1,41 —	0,33 —
2,5 — — . . .	1,70 —	0,29 —
3,0 — — . . .	1,90 —	0,20 —

Som man ser, stemme disse Resultater i enhver Henseende overens med dem, som Kurven pag. 151 giver. Sukkertilvæxterne ere næsten fuldstændig proportionale med Diastasemængden, saalænge den hele Sukkermængde ikke overstiger 1,41 + 0,49 (Sukker i Forsøgsvædsken, stammende fra Stivelsen) = 1,90 Grm., hvad omtrent svarer til Reduktionsevnen 29. En Filtration af Forsøgsvædsken gjøres altsaa ikke fornøden; man behøver kun ved Siening at sørge for, at ingen uopløste Klisterdele følge med.



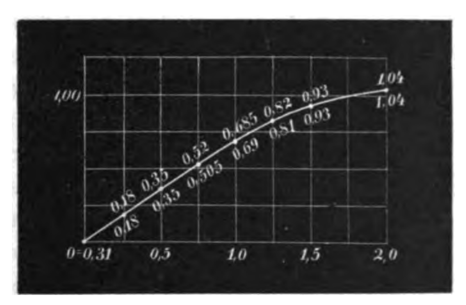
Sukkertilvæxt ved Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske (ufiltreret).

Endelig viser Kurven pag. 155 en Række, hvor der til hvert Forsøg kun toges 100 Kub.-Cent. Forsøgsvædske (Tørstof 3,30 %, Sukker 0,31 %), som siden fortyndedes til 130. Sukkertilvæxterne og deres Differenser ere:

	Sukkertilvæxt.	Differens.
0,25 Kub.-Cent. Maltudtræk. . .	0,18 Grm.	0,18 Grm.
0,50 — — . . .	0,35 —	0,17 —
0,75 — — . . .	0,52 —	0,17 —
1,00 — — . . .	0,685 —	0,165 —
1,25 — — . . .	0,82 —	0,145 —
1,50 — — . . .	0,93 —	0,11 —
2,00 — — . . .	1,04 —	

Kurven viser altsaa den bedste Overensstemmelse med de to foregaaende. At Afvigelserne fra den rette Linie begynde tidligere her, er en ligefrem Følge af, at vi allerede efter en Sukkertilvæxt

paa 0,69, der frembringes af 1 Kub.-Cent. Maltudtræk, have naaet, Reduktionsevnen R = 28, eller Grændsen for Proportionalitetsloven. Ved Sammenligning med Kurven pag. 151 se vi derfor, at 1 Kub.-Cent. Maltudtræk frembringer samme Mængde Sukker i begge Tilfælde (0,69 Grm. og 0,685), hvorimod 2 Kub.-Cent. har givet 1,36 Grm. Sukker i 200 Kub.-Cent., men kun 1,04 Grm. i 100 Kub.-Centimeter.



Sukkertilvæxt ved Indvirkning af variable Mængder Maltudtræk paa 100 Kub.-Cent. Forsøgsvædske.

Ved nogen Tids Henstand ved almindelig Temperatur bliver dog en slig Opløsning sur og derved, som vi senere skulle se, ganske ubrugelig. Da Hensigten med Fremstillingen af en saadan Forsøgsvædske jo imidlertid netop er den, at skaffe sig Materiale til en Række Undersøgelser, der fortsættes gjennem længere Tid, maatte jeg søge at beskytte Vædsken mod Forandringer af den nævnte Art. Dette kan let opnaas, ved at komme den paa vel proppede Flasker og hensætte disse i en Ballie med Is. Flasken tages da kun ud af Ballien, medens man deraf afmaaler sig de Portioner Forsøgsvædske, man kort efter skal bruge, og sættes derefter strax igjen ned i Isvandet. Jeg har i Almindelighed tilberedt 12 Litr. Forsøgsvædske ad Gangen og opbevaret dem paa den nævnte Maade; dette Forraad slog omtrent til for 4 Uger, og efter denne Tids Forløb fandt jeg altid Vædsken fuldkommen uforandret, baade med Hensyn til neutral Reaktion, Sukkermængde og øvrige Forhold; kun samler der sig efterhaanden et let, fnugget Bundfald, medens den derover staaende Vædske bliver noget mere klar; men denne Omstændighed har dog ingen Betydning ved Vædskens Anvendelse til Diastasemaaling[1]).

[1]) Forsøgene ere udførte ved Vintertid; ved nogle, som jeg har foretaget i Løbet af Sommermaanederne har jeg dog ikke fundet det heldigt at opbevare Forsøgsvædsken længere end 8 Dage.

Vi have nu altsaa Midler ihænde til at sammenligne Diastasemængden i forskjellige Opløsninger, og Vejen er derved aabnet til en Mængde interessante Undersøgelser. Vi kunne saaledes undersøge forskjellige Maltprøver med Hensyn til deres Rigdom paa Ferment; en saadan Prøve vil utvivlsomt ofte kunne være af Vigtighed, navnlig ved Maltets Anvendelse i Brænderierne, hvor jo netop dets sukkerdannende Evne er Maalestokken for dets Værdi. Vi kunne endvidere undersøge Udviklingen af det diastatiske Ferment under selve Maltgjøringsprocessen og derved maaske komme til vigtige Slutninger over dennes Gang; ogsaa fra et rent videnskabeligt, plantefysiologisk Standpunkt vil det sikkert kunne have sin Interesse, at kunne forfølge dette mærkelige Stof under Spiringsprocessen ved en kvantitativ Analyse. Vi kunne fremdeles undersøge Kølletørringens Indflydelse paa Maltets Fermentevne; det er jo bekjendt, at denne paa Køllen undergaar en ikke ringe Formindskelse; ved Hjælp af den nye Methode er det nu en let Sag at forfølge denne Formindskelse fra Trin til Trin i Tørringsprocessen og undersøge Indflydelsen i saa Henseende af de forskjellige Fremgangsmaader ved Tørringen. Vi kunne undersøge, hvilken Indflydelse Lagringen af Maltet under forskjellige Omstændigheder har paa dets diastatiske Evne, o. s. v.

Forinden vi gaa over til at anvende Methoden paa Løsningen af disse forskjellige praktiske Opgaver, er der dog et Spørgsmaal, vi først maa søge besvaret. Vi have ovenfor vist, hvorledes man kan sammenligne Diastasemængden i forskjellige Opløsninger. Her er det imidlertid faste Stoffer, der foreligge til Undersøgelse i saa Henseende, og derfor maa det først slaas fast, hvorledes man skal foretage Udtrækningen for at faa al Diastasen over i Opløsning. Nedenstaaende Forsøg give Oplysning herom:

En Del Køllemalt blev malet fint paa en lille Haandmølle (efter Hennebergs System, kjøbt 1879 hos Gerhardt i Bonn). Medens Maltudtrækket tidligere blev tilberedt af 1 Del Malt og 4 Dele Vand og efter Filtrationen fortyndet i Forholdet 1 : 10 (naar der i det foregaaende tales om 1 Kub.-Cent., menes dermed 10 Kub.-Cent. saaledes fortyndet Maltudtræk), blev der her anvendt 40 Dele Vand til 1 Del Malt, idet den store Mængde Vand formentlig hurtigere vilde bevirke en fuldstændig Udtrækning af Diastasen. Til hver Portion finmalet Køllemalt à 25 Grm. blev der altsaa taget 1000 Grm. destilleret Vand, hvormed det henstod i forskjellig lang Tid under jævnlig Omrøring. Derefter bleve Udtrækkene filtrerede klare, hvad der let lykkedes, ved at helde det først gjennemløbne nogle Gange tilbage paa Filtret. Sukkermængden i hvert

Udtræk bestemtes for at kunne indføre Korrektionen herfor. Derefter foretoges med 15 Kub.-Cent. saadant Udtræk en Sukkerdannelse i 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske paa sædvanlig Maade, og Sukkertilvæxterne bestemtes:

			Sukkertilvæxt.
Nr. 1.	Udtrækning	i ½ Time	$0{,}863$ Grm.
- 2.	—	i 4 Timer ...	$1{,}055$ —
- 3.	—	i 6 — ...	$1{,}098$ —
- 4.	—	i 12 — ...	$1{,}105$ —

Det ses heraf, at ½ Times Udtrækning ikke har været tilstrækkelig til at bringe Diastasen i Opløsning, men at derimod en 6 Timers Digestion er nok, idet det herved fremstillede Udtræk ikke staar kjendeligt tilbage i Virkning for det, som man faar efter 12 Timers Henstand.

Ved Undersøgelser af Grønmalt, og i det hele taget af Byg i forskjellige Stadier af Spiring, kan man ikke ligefrem findele sit Materiale paa sædvanlig Maade, da det bløde, meget vandholdige Korn ikke lader sig male paa Mølle. Man maa derfor knuse de fugtige Korn, hvad der meget hensigtsmæssigt kan ske paa en saakaldet Kjødhakkemaskine; man afvejer da 25 Grm. af den Dejg, man paa denne Maade har erholdt, og river nu denne i smaa Portioner sammen med Vand, indtil det hele, paa Skallerne nær, danner en ensformig Blanding, hvis Vægt man derpaa supplerer med Vand til 1025 Grm. Man ser, at der her begaas en lille Fejl, idet der tilsættes 1000 Grm. Vand i alle Tilfælde, uden at tage Hensyn til den større eller mindre Vandmængde, der iforvejen findes i Maltet. Denne Fejl er imidlertid forsvindende; medens Vandmængden i Blandingen ved ganske tørt Køllemalt er 1000 Grm., udgjør den ved det mest fugtige Grønmalt c. 1012 Grm., altsaa kun en Forskjel paa c. 1 Procent.

Istedetfor paa denne Maade at søge at findele det fugtige Korn, kan man ogsaa udbrede Prøven i et tyndt Lag i et nogenlunde varmt Lokale. Spiringen standses da efter meget kort Tids Forløb, og efter nogle Dage ere Kornene saa tørre, at de lade sig finmale paa Møllen.

Det er en Selvfølge, at der jævnsides med enhver Bestemmelse af Fermentevnen maa gaa en Bestemmelse af Vandmængden i Prøven, for at kunne reducere de erholdte Værdier for Diastasemængden til de vandfri Stoffer.

Ved Betragtning af Kurverne pag. 151 og 154 ser man, at $1{,}5$ Kub.-Cent. Maltudtræk (eller 15 Kub.-Cent. Udtræk af 1 Del

Malt: 40 Dele Vand) i begge Tilfælde har frembragt en Sukkertilvæxt paa ca. 1 Gram. Jeg har derfor sat Diastasemængden i et Stof = 100, naar 15 Kub.-Cent. af et Udtræk deraf af Styrken 1 : 40 frembringer en Sukkertilvæxt = 1 Grm. i 200 Kub.-Cent. Forsøgsvædske. Ved Undersøgelsen af fermentholdige Opløsninger bør man i det hele søge at vælge Mængden deraf saaledes, at Sukkertilvæxten omtrent bliver af denne Størrelse. Naar man saaledes undersøger Prøver af Køllemalt, hvis Virkninger tør antages ikke at være meget indbyrdes forskjellige, bør man tage 15 Kub. Cent. Udtræk. Ligge Sukkertilvæxterne i Nærheden af 1 Grm., ville Diastasemængderne forholde sig som disse, da Kurven paa korte Strækninger kan betragtes som fuldkommen retliniet. Ligge de længere herfra, og selv om de falde noget udenfor Proportionalitetslovens Grændser, vil man dog ved Benyttelse af Kurverne pag. 151 og 154 kunne finde Diastasemængderne, idet disse ville forholde sig som de til de fundne Sukkermængder svarende Abscisser (jvfr. pag. 135 og 147). Det er imidlertid isaafald rettest, kun at bruge et sligt Forsøg til Orientering og gjøre det om igjen med en saadan Mængde Fermentopløsning, at man nu faar c. 1 Grm. Sukkertilvæxt. Exempel: 15 Kub. Cent. Grønmaltudtræk gav 1,90 Grm. Sukkertilvæxt; hertil svarer paa Kurven pag. 154 Abscissen 3,0; Diastasemængden i Grønmaltet skulle altsaa være $\frac{3{,}0 \text{ (Abscissen til 1,90)}}{1{,}4 \text{ (Abscissen til 1,00)}} \cdot 100 = 214$. Da vi imidlertid her ere komne udenfor den retliniede Del af Kurven, gjøres Forsøget om med 7,5 Kub. Cent. af det samme Grønmaltudtræk; vi finde da f. Ex. en Sukkertilvæxt af 1,11 Grm., hvorefter Diastasemængden i Prøven bliver $2 \cdot \frac{1{,}11}{1{,}00} \cdot 100 = 222$ (det samme faas nu, ved at tage Forholdet mellem Abscisserne, idet $2 \cdot \frac{1{,}55 \text{ (Absc. til 1,11)}}{1{,}4 \text{ (Absc. til 1,00)}} \cdot 100 = 222$). Tager man kun 100 Kub. Cent. Forsøgsvædske, skal man ogsaa kun arbejde med saameget Ferment-Udtræk, at der fremkommer en Sukkertilvæxt paa omtrent $\frac{1}{2}$ Grm. Diastasemængden sættes her = 100, naar 7,5 Kub. Cent. Udtræk (1 : 40) giver 0,500 Grm. Sukkertilvæxt, idet dette omtrentlig frembringes af 7,5 Kub. Cent. Udtræk af almindeligt Køllemalt.

Fermentevnen hos Byg.

Det er bekjendt, at der allerede hos Byg, selv naar det aldeles ikke har spiret, findes en kjendelig diastatisk Evne. I Almindelighed forestiller man sig dog vistnok denne som betydelig mindre, end det i Virkeligheden er Tilfældet. Af et paa den pag. 156 angivne Maade fremstillet Udtræk af uspiret Byg frembragte

15 Kub. Cent. en Sukkertilvæxt = 0,63 Grm., 22 Kub. Cent. en S. t. = 0,90 Grm. i 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske. Diastasemængden i dette Byg var altsaa $\frac{15}{22}$. 90 = 61. Da det indeholdt 13,5 % Vand, vil Diastasemængden i det vandfri Byg altsaa beløbe sig til 70. Jeg har undersøgt en halv Snes Bygprøver fra forskjellige Steder i denne Henseende og mærkelig nok fundet Fermentevnen hos dem alle omtrent af samme Størrelse. Overensstemmende hermed er det, at medens Mængden af de Stoffer i Byg, som lade sig opløse ved Behandling med Vand, kun udgjør c. 8 %, naar denne foretages ved almindelig Temperatur, kan man ved længere Digestion med Vand ved 60° bringe over 50 % i Opløsning, med andre Ord, en Mængde, der svarer til næsten al Stivelsen; Filtrationen er ikke let og navnlig meget vanskeligere end ved Malt, men kunde dog give en fuldkommen klar Vædske.

Det turde her være Stedet til at gjøre en Bemærkning i Anledning af den af O'Sullivan fremsatte Paastand, at Stivelse i den naturlige, ikke klisteragtige Tilstand ikke paavirkes af Maltudtræk. Denne Iagttagelse staar nemlig, som det strax vil ses, i Modstrid med Erfaringerne fra Praxis; hvis den var rigtig, kunde der nemlig ikke gaa andre Stoffer fra Maltet over i Urten end de, der ligefrem ere opløselige i Vand, saalænge Mæskningen foretages ved en Temperatur, der ligger lavere end den, hvorved Klisterdannelsen indtræder. Maltudtrækkets Styrke skulde altsaa blive væsentlig den samme, ved hvilken Temperatur under ca. 60° Behandlingen end blev foretagen. Det er imidlertid en bekjendt Sag, at man f. Ex. ved 50° faar et langt stærkere Udtræk end ved 20°, og ligeledes, at man ved denne sidste Temperatur faar desto flere Stoffer i Opløsning, jo længere Digestionen fortsættes, og at denne Tilvæxt vedbliver gjennem meget lang Tid. Kontrolforsøg vise imidlertid Rigtigheden af O'Sullivans Iagttagelser, men denne Modsigelse hæves, som Baranetzky[1]) har vist, derved, at O'S. til sine Forsøg udelukkende har benyttet Kartoffelstivelse, der angribes langt vanskeligere af Diastase i den ikke-klisteragtige Tilstand end Kornsorternes Stivelse. Ved at gjentage O'Sullivans Forsøg med Hvedestivelse, fandt jeg ogsaa, at Maltudtræk var istand til at opløse en kjendelig Mængde deraf allerede ved almindelig Temperatur og endnu mere ved højere, men dog under Klisterdannelses-Punktet liggende Varmegrader, f. Ex. ved 50°. Ved en Undersøgelse af den saaledes erholdte Opløsning med Hensyn til Reduktions- og Drejningsevne fandtes den væsentlig at indeholde Maltose, hvad

[1]) Stärkeumbildende Fermente, pag. 38.

der jo ikke kan forundre, naar man ser hen til det overordentlig store Overskud, hvori Diastasen under disse Omstændigheder er tilstede.

Fermentevnens Udvikling under Maltgjøringsprocessen.

Til Undersøgelserne over Diastasens Tilvæxt under Spiringen blev der af et bestemt Maltstykke i Bryggeriet daglig Kl. 9 Fm. udtaget en Prøve. Der blev herved draget Omsorg for, at denne saavidt muligt, kunde blive en virkelig Gjennemsnitsprøve; der blev derfor udtaget en temmelig stor Mængde (3—5 Pd.), samlet af smaa Portioner fra forskjellige Steder i Bunken. Denne Prøve blev derefter delt paa lignende Maade o. s. v., indtil man havde faaet 2 Prøver à 25 Grm., foruden en 3die mindre, der brugtes til Vandbestemmelsen. Paa begge disse Prøver blev der udført en Diastasebestemmelse, og hvert af de nedenfor anførte Tal er derfor Middelværdien af 2 Forsøg, der forøvrigt i Almindelighed gave vel stemmende Resultater. Angaaende Prøvernes Behandling med Hensyn til Udtrækningen henvises til pag. 156—157.

Med Hensyn til Gangen i Fabrikationen skal her kun bemærkes følgende: Bygget staar 72 Timer i Støb (Udblødning med Vand); den egentlige Maltgjøringsproces varer i 8 Dage. I det første Døgn ligger Bygget i en høj Dynge (»i Ryg«), i de følgende 7 i et fladt Stykke af bestandig aftagende Tykkelse. Stykket kastes 2 Gange i Døgnet, nemlig 6 Fm. og 6 Eftm. Temperaturen i Maltet varierer omtrent mellem 15° og 20—21° C.

Blandt flere Forsøgsrækker af denne Art anføres følgende to:

A. Maltet knust i fugtig Tilstand.

Dage paa Maltgulvet.	Tørstof i Maltet.	Fermentevne		Fermentevnens Tilvæxt (vandfrit Malt.
		i det fugtige Malt.	i det vandfri Malt.	
1	54 %	38	70	3
2	56 -	41	73	7
3	54 -	43	80	25
4	57 -	60	105	45
5	58 -	87	150	40
6	60 -	114	190	30
7	60 -	132	220	6
8	62 -	140	226	

(Fermentevnen hos det vandfri Byg = 74.)

B. Maltet hurtig tørret i et tyndt Lag og derefter malet paa Mølle.

Dage paa Maltgulvet.	Tørstof i Maltet.	Fermentevne		Fermentevnens Tilvæxt (vandfrit Malt).
		i det vandfri Malt.	i det fugtige Malt.	
1	53 %	36	68	
2	54 -	36	67	— 1
3	57 -	43	75	8
4	60 -	59	98	23
5	59 -	83	140	42
6	62 -	113	183	43
7	60 -	127	211	28
8	62 -	135	218	7

(Fermentevnen hos det vandfri Byg = 73.)

Fermentevnen er altsaa forbleven omtrent uforandret i Bygget, efter at dette har staaet 3 Dage i Støb (lidt formindsket ved Udvaskning), og holder sig ligeledes temmelig uforandret i de 3 første Dage af Maltningsprocessen. Derefter indtræder der en hurtig Forøgelse, som navnlig er fremtrædende paa den 5te og 6te Dag, hvor ogsaa Spiringen foregaar livligst. Fra denne Periode sker Tilvæxten i Fermentevne atter langsommere, saaledes at den fra den 7de til den 8de Dag er meget ringe. Maltet er da udbredt i et temmelig tyndt Lag, og Spirene ifærd med at visne. I det hele er Fermentevnen under Maltgjøringen voxet saameget, at den i Grønmaltet er ca. 3 Gange saa stor som i Bygget, begge tagne i vandfri Tilstand.

Fermentevnens Tilbagegang under Kølletørringen.

Prøverne udtoges fra Kølleflagerne i Bryggeriet med Iagttagelse af de samme Forsigtighedsregler for at faa en Gjennemsnitsprøve, som ved de foregaaende Forsøgsrækker. Dette var dog vanskeligere at opnaa i dette Tilfælde, da Maltet har en meget forskjellig Temperatur, eftersom det ligger nederst eller øverst i Laget; paa det Sted, hvor Prøven udtoges, blev der derfor forinden kastet et Par Gange.

Tørringen foretages paa en sædvanlig, dobbeltflaget Kølle. Maltet bringes paa den øverste Flage Kl. 10 Fm.; 24 Timer derefter kommer det ned paa den underste Flage, hvor det atter for-

bliver i henved 24 Timer. Den hele Tørringsproces medtager altsaa 2 Døgn. Kastningen foretages for Haanden, paa den øverste Flage omtrent hver 3die Time i Løbet af Dagen; Maltet ligger urørt her Natten over og kastes endelig et Par Gange om Formiddagen paa den nederste Flage, hvorefter det bliver liggende urørt, til det skydes af.

Temperaturen iagttages paa 3 Thermometre, et under den nederste Kølleflage, et andet mellem begge Flager og et tredie over den øverste. Middeltallet af de 2 første Thermometerangivelser vil da give den Gjennemsnits-Temperatur, som Maltet har paa den nederste Flage, Middeltallet af de 2 sidste Temperaturen paa den øverste Flage. Paa denne Maade faar man en langt rigtigere Angivelse af Maltets Temperatur, end ved at iagttage et i selve Laget nedsat Thermometer. Gangen af de 3 Thermometre vil, bortset fra mindre Afvigelser, være følgende:

Klokkeslet.	Under nederste Flage.	Mellem Flagerne.	Over øverste Flage.
10 Fm.	65°	48°	38°
12 -	69°	53°	—
2 Eftm.	72°	57°	29°
4	77°	63°	—
6	82°	68°	—
7 -	87°	70°	—
8 -	78°	71°	31°
5 Fm.	67°	55°	24°
10 -	65°	48°	—

Kl. 2 Eftm. vil saaledes Maltets Gjennemsnitstemperatur ifølge dette være:

paa nederste Flage = 65°,
- øverste — = 43°.

Temperaturerne ere ikke blevne iagttagne ved Udtagelsen af de enkelte Prøver, men ere beregnede ved Hjælp af denne Tabel.

Blandt flere Forsøgsrækker anføres følgende:

Kølleflage.	Klokkeslet.	Temperatur.	Tørstof i Maltet.	Fermentevne	
				i det fugtige Malt.	i det vandfri Malt.
Øverste	11½ Fm.	41°	56,5 %	125	221
—	3 Eftm.	44°	58,9 -	124	210
—	5½ -	48°	61,1 -	123	202
—	7¾ -	51°	64,1 -	125	195
—	11 -	49°	69,5 -	135	195
—	7¼ Fm.	49°	88,8 -	141	159
Nederste	11 -	59°	92,9 -	162	173
—	4 Eftm.	70°	94,7 -	147	155
—	10½ -	68°	96,6 -	113	117
—	7 Fm.	61°	95,7 -	96	100

Som man ser, finder der en stadig Formindskelse Sted af Fermentevnen; en enkelt Afvigelse herfra, nemlig 159 for »øverste Kølle, 7¼ Fm.« mod 173 for »nederste Kølle, 11 Fm.«, maa hidrøre fra, at det her ikke er lykkedes at faa virkelige Gjennemsnitsprøver. I den her anførte Forsøgsrække har denne Formindskelse været stærkest under den midterste Periode af Opholdet paa nederste Kølleflage (fra 4 Eftm. til 10½ Eftm.); i andre Rækker har Tidspunktet for den stærkeste Tilbagegang stundom ligget noget tidligere, men i alle Tilfælde har det endelige Resultat været, at Fermentevnen ved den her beskrevne Tørringsmethode er bleven formindsket til omtrent det halve.

Koncentrationens Indflydelse paa Sukkerdannelsen.

Forsøgene over Sukkerdannelsen i Opløsninger af variabel Styrke høre, som allerede berørt pag. 146, egentlig ind under første Afsnit. Efter den der anvendte Forsøgsmethode vilde man dog vanskelig kunne foretage større Forandringer i Koncentrationen, idetmindste vilde en Klister, der var synderlig tykkere, end den der omtalte, ikke let lade sig bruge. Derimod kan man let ved Anvendelse af Forsøgsvædsken lade Opløsningens Styrke variere fra 10 % og nedad. Betydelig stærkere lader den sig ikke fremstille; ved et Forsøg paa at inddampe den til en Styrke paa ca. 20 %, stivnede den efter Afkøling til en fast, hvid Masse.

Med en Forsøgsvædske, som indeholdt 10 % Tørstof og 0,93 % Sukker, blev der anstillet følgende Forsøg:

A. 25 Kub. Cent. (med 0,23 Grm. Sukker) blev underkastet Indvirkningen af 0,5 Kub. Cent. Maltudtræk (i 20 Minutter ved 57°). Sukkertilvæxt = 0,390 Grm. R = 25.

B. 100 Kub. Cent. (med 0,93 Grm. Sukker) behandledes paa samme Maade med 0,5 Kub. Cent. Maltudtræk. S. t. = 0,395 Grm. R = 13.

C. 25 Kub. Cent. fortyndedes til 100 og behandledes derpaa med samme Mængde Maltudtræk. S. t. = 0,355 Grm. R. = $23^1/_2$.

Ved Sammenligning af Forsøgene A og C vil man se, at der i begge er samme Forhold mellem Fermentet og det paavirkede Stof, kun er dette i C tilstede i en 4 Gange tyndere Opløsning end i A. I A og B er Koncentrationen den samme, men Rumfanget forskjelligt, hvad der ved saa lave Reduktionsevner ikke medfører nogen væsentlig Forskjel; i B og C er det omvendte Tilfældet, hvorfor vi træffe samme Forskjel her, som mellem A og C.

2 andre Forsøgsrækker have givet aldeles analoge Resultater og anføres derfor ikke her.

Altsaa vil den Mængde Sukker, som dannes af samme Mængde Diastase, alt andet forøvrigt lige, aftage lidt, naar Opløsningen, hvori Reaktionen foregaar, bliver svagere; dog er denne Forskjel indenfor de her betragtede Grændser temmelig ubetydelig. Ved Opløsninger af ikke meget forskjellig Koncentration kan man derfor godt se bort fra dennes Indflydelse, og her gjælder da den Sætning, at lige Mængder Diastase, som virke ved samme Temperatur og i samme Tid, frembringe ligemeget Sukker, hvad enten Opløsningen er noget stærkere eller svagere. Sukkermængderne, som dannes ved forskjellige Mængder Diastase, vedblive derfor at være Maal for disse, selv om Virkningen er foregaaet i Vædsker af noget forskjellig Koncentration, en Sætning, der er af ikke ringe Vigtighed for Sammenligningen af de med forskjellige Forsøgsvædsker anstillede Iagttagelser.

Det er dog en Selvfølge, at denne Sætning om Koncentrationens ringe Indflydelse kun staar ved Magt, saalænge Sukkerdannelsen ikke har naaet et større Omfang, end at Loven om Proportionaliteten er gjældende for alle de forelagte Opløsninger. Naar vi have naaet Reduktionsmaximum for de svagere Opløsninger, vil en forøget Tilsætning af Ferment ikke frembringe kjendelig mere Sukker i disse, men vel i de stærkere, saa at den samme

Mængde Diastase nu producerer betydelig mere Sukker i den koncentrerede, end i den fortyndede Opløsning (smlgn. hermed Virkningen af samme Mængde Diastase paa forskjellige Rumfang Forsøgsvædske pag. 154 og 155). Naar der endelig anvendes en saa stor Mængde Ferment, at vi naa Reduktionsmaximum i alle Opløsninger, vil den producerede Mængde Sukker være omtrent proportional med Opløsningens Styrke og temmelig uafhængig af Diastasemængden; her gjælder altsaa netop den omvendte Lov. Disse Sætninger ere bekræftede ved direkte Forsøg, men ere forøvrigt ligefremme Slutninger af det pag. 134—135 udviklede.

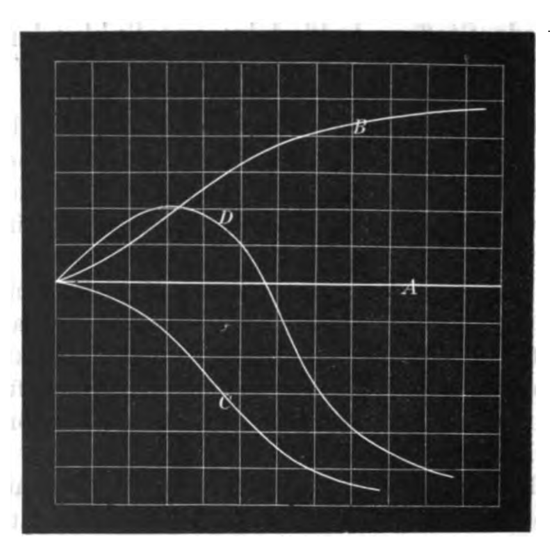
Fremmede Stoffers Indflydelse paa Sukkerdannelsen.

Mange Stoffer udøve ved deres Tilstedeværelse i Vædsken, hvori Sukkerdannelsen foregaar, en meget betydelig Indflydelse paa dennes Gang. Med Hensyn til den Retning, hvori denne Indflydelse gaar, har man kun i enkelte Tilfælde (smaa Mængder af fortyndede Syrer) troet at iagttage en Forhøjelse i Virkningen. Derimod kjender man et stort Antal Stoffer af meget forskjellig Natur, der svække Diastasens Virkning, eller, i noget større Mængde, ganske ophæve den. Saadanne Stoffer ere: Alkalier, større Mængder af fortyndede Syrer, de fleste Salte af vægtfyldige Metaller, Arsenikforbindelser, Alun, Borax, o. fl. Mange Stoffer, der have en giftig Virkning paa Organismerne, optræde ogsaa som »Gifte« overfor dette uorganiserede Ferment.

Ved alle Undersøgelser over disse Forhold har man dog hidtil saa godt som udelukkende holdt sig til den kvalitative Side af Sagen; det mangler ganske paa Oplysninger om Forholdet mellem Mængden af de fremmede Stoffer og Fermentevnens Forandring; man finder intet om, hvilke Stoffer der maa betragtes som stærke »Gifte«, og hvilke som svage. Det er herom, at der i dette Afsnit skal meddeles nogle Oplysninger.

Pag. 122 have vi angivet de 4 Faktorer, der kunne tænkes at have Indflydelse paa Maltudtræks Indvirkning paa Stivelseklister, naar der forøvrigt intet andet findes i Opløsningen, og i det følgende er vist, hvorledes man, ved at lade de 3 Faktorer blive konstante og lade den fjerde variere, kan bestemme Indflydelsen af denne sidste. Paa ganske den samme Maade kunne vi nu bestemme

Virkningen af de fremmede Stoffer; saasnart der sættes et saadant til Opløsningen, er der derved med det samme bleven indført en 5te Faktor, der kan spille en Rolle ved Reaktionen. For at bestemme denne, lade vi altsaa de 4 Faktorer fra pag. 122 blive konstante, men lade den femte variere, m. a. O., vi bestemme de forskjellige Sukkermængder, der dannes, naar den samme Mængde Maltudtræk i samme Tid og ved samme Temperatur virker paa lige Rumfang Forsøgsvædske, til hvilke man har sat forskjellige Mængder af det fremmede Stof, der skal undersøges i denne Henseende. Disse Forsøg kunne da ogsaa fremstilles grafisk, idet man tager Mængden af det fremmede Stof, angivet i Gram eller i Ækvivalenter, til Abscisser og Sukkertilvæxten til Ordinater[1]). Med Hensyn til deres Virkning i den her omtalte Henseende kunne vi da tænke os de forskjellige Stoffer ordnede i 4 Grupper (jvfr.



Almindeligt Skema for fremmede Stoffers Indvirkning paa Diastase.

Skemaet): en, som indbefatter de Stoffer, der forholde sig indifferente, hvad der antydes ved Linien A, parallel med Abscisseaxen; en

[1]) Korrektest vilde det vel være til Ordinater at vælge ikke Sukkertilvæxten, men Fermentvirkningen, som vi jo i det foregaaende have vist kan udledes af hin. Naar vi imidlertid, som Tilfældet er med alle disse Forsøg, holde os indenfor Proportionalitetslovens Grændser, vilde Kurvernes Figur jo ikke derved kjendelig forandres.

anden, bestaaende af de Stoffer, der fremme Sukkerdannelsen; deres Virkning fremstilles ved Kurver af Typen B; en tredie Gruppe af Stoffer, der hæmme Virkningen, giver Kurver som C. Endelig antager man om visse Stoffer (fortyndede Syrer), at de i smaa Mængder fremme, i større formindske den diastatiske Evne: en saadan Virkning vil fremstilles ved Kurver af Typen D.

I det følgende vil man finde Exempler paa Stoffer af Grupperne A, C og D, hvorimod jeg ikke med Sikkerhed har kunnet paavise noget af Gruppen B, altsaa et, som virkede ubetinget gunstigt paa Sukkerdannelsen.

Det er klart, at en Undersøgelse af denne Art, som skulde kaldes udtømmende, vilde være et meget stort, man kan vel sige uoverkommeligt Arbejde, idet man maatte prøve Virkningen af alle bekjendte Stoffer. Selvfølgelig kunne de efterfølgende Forsøg langtfra gjøre Fordring paa en saadan Fuldstændighed; jeg har maattet nøjes med at undersøge enkelte Stoffer, hos hvilke man med nogen Sandsynlighed kunde formode en ejendommelig Virkning, eller som kunde betragtes som Typer for en større Gruppe. Skjøndt jeg ogsaa, set fra dette Standpunkt, kunde have ønsket at give mine Undersøgelser en større Fuldstændighed, haaber jeg dog at have faaet medtaget en Del af det mest væsentlige.

De Stoffer, som ere blevne prøvede, kunne henføres til følgende Afdelinger:

1. Sukkerarter.
2. Fortyndede Syrer og Alkalier.
3. Salte af vægtfyldige Metaller.
4. Forskjellige andre Salte.
5. Karbolsyre, Salicylsyre.
6. Alkaloider.
7. Vinaand.

1. Sukkerarter.

Blandt de Stoffer, hvis Indflydelse paa Sukkerdannelsen det kunde have Interesse at undersøge, synes Sukkerarterne at være af særlig Betydning, og da navnlig den Sukkerart, der selv er Hovedproduktet ved denne Omdannelse, nemlig Maltose. Som fremhævet i Indledningen er det af Payen gjort gjældende, at naar Sukkerdannelsen gik istaa, forinden alt var omdannet hertil, var Grunden den, at det dannede Sukker var til Hinder for Diastasens Indvirkning paa Resten af Dextrinet, saa at den vilde standse, naar Vædsken var kommen til at indeholde en vis Mængde Sukker.

I det foregaaende er det. vist, at vi med Diastase let kunne bringe Maltosemængden op til 66—68 %, men meget vanskeligt derover. Det laa derfor nær at antage, at, naar vi til Forsøgsvædsken satte saameget Maltose, at dette udgjorde 66—68 % af Tørstoffet allerede før Diastasens Tilsætning, vilde Virkningen af denne være Nul eller ialfald meget ringe. Til Oplysning herover foretoges følgende Forsøg:

Forsøgsvædsken indeholdt paa 100 Kub. Cent. 3,35 Grm. Tørstof, deri Sukker 0,39 Grm. = 0,59 Grm. Maltose.

Forsøg A.

100 Kub. Cent. Forsøgsvædske fortyndedes til 130. Heri vil nu være 2,76 Grm. Dextrin,
0,59 - Maltose,

3,35 Grm. Tørstof, hvoraf Maltoset kun udgjør 17,6 % (R = 11,5). I 50 Kub. Cent. heraf, som altsaa oprindelig indeholdt 0,227 Grm. Maltose, fandt man efter Digestion med 0,25 Kub. Cent. Maltudtræk 0,485 Grm., ɔ: en Tilvæxt paa 0,258 Grm.

Forsøg B.

Til 100 Kub. Cent. Forsøgsvædske blev der sat 5,10 Grm. Maltosehydrat = 4,84 Grm. vandfrit Maltose[1]), og Opløsningen fortyndedes til 130. Heri vil nu være:
2,76 Grm. Dextrin,
5,43 - Maltose,

8,19 Grm. Tørstof, hvoraf Maltoset udgjør 66,3 % (R = 44). I 50 Kub. Cent., der altsaa oprindelig indeholdt 2,090 Grm. Maltose, fandt man efter Digestion med 0,25 Kub. Cent. Maltudtræk, ganske paa samme Maade som i Forsøg A, 2,330 Grm., ɔ: en Tilvæxt paa 0,240 Grm.

Forsøgene have altsaa givet det mærkelige Resultat, at lige Mængder Diastase, naar de virke under forøvrigt lige Omstændigheder, frembringe paa det nærmeste ligestore Mængder Maltose,

1) Maltoset er vundet ved at underkaste en Maltose-Dextrinopløsning, der paa sædvanlig Maade var fremstillet ved Indvirkning af Maltudtræk paa Stivelseklister ved 55—60°, en Dialyse. Efter Inddampning af Dialysatet til Sirup paa Vandbad krystalliserer Maltoset med stor Lethed, saa at det hele efter nogle Dage stivner til en fast Krystalmasse. Denne blev presset for at bortfjærne Moderluden og omkrystalliseret af Vinaand.

hvad enten Reaktionen finder Sted i en Opløsning, hvor Reduktionsevnen er 44, eller i en, hvor den kun er 11,5.

Det kunde synes, som om disse Forsøg stode i Modstrid med det forhen udviklede. Det er jo nemlig tidligere ofte nok bleven fremhævet, at Sukkerdannelsen gaar saa godt som istaa, naar man har naaet Reduktionen 44, og denne Størrelse er derfor ogsaa, om end ikke ganske korrekt, bleven kaldet Maximum af Reduktionsevne. I Forsøg B gaa vi imidlertid ud fra en Opløsning med Reduktionsevnen 44, og se ikke destomindre Sukkerdannelsen gribe ligesaa kraftigt om sig, som i den sukkerfattige Opløsning i Forsøg A. Herved maa dog erindres, at, naar vi tidligere saa Sukkerdannelsen standse ved R = 44, var Opløsningen samtidig undergaaet en anden Forandring, der gav sig tilkjende ved Jodreaktionens Forsvinden. Opløsningen fra Forsøg B er vel overensstemmende med denne, hvad Sukkermængden angaar, men adskiller sig fra den ved Beskaffenheden af de andre Stoffer, der her bestaa af »lavere« Dextriner, som give blaa eller violet Farve med Jod. Disse Forsøg lære altsaa kun dette, at Diastasens Indvirkning paa de lavere, jodfarvende Dextriner ikke, eller kun i ringe Grad, paavirkes ved Tilstedeværelsen af større eller mindre Mængder Maltose.

At en Tilsætning af Druesukker ligeledes er uden Indflydelse, kan efter det foranstaaende ikke forundre. Forsøgene herover ere udførte ganske paa samme Maade som de foregaaende, og jeg skal derfor ikke nærmere omtale dem. Forsøg over Sukkerdannelsen i Druesukker-holdig Klister ere ogsaa anstillede af Baranetzky (»Stärkeumbildende Fermente«, pag. 31); han kommer derved til samme Resultat som her, men mener dog, at Maltose vistnok vilde forholde sig paa en anden Maade (ibid., pag. 33).

Der staar altsaa nu tilbage at undersøge det ikke-jodfarvende Dextrins Forhold overfor Diastasen. Grunden til, at Sukkerdannelsen standser, naar vi have naaet R = 44, og Vædsken næppe farves mere af Jod, kan jo nemlig enten være den, at det Dextrin, som findes i Opløsningen paa dette Stadium, ikke, eller kun vanskeligt, paavirkes af Diastasen, eller ogsaa, at denne Omdannelse kun hæmmes ved den store Mængde Sukker, som Vædsken indeholder. Vi staa, kort sagt, paany overfor det gamle Stridsspørgsmaal mellem Musculus og Payen, som kun er givet en snævrere Begrændsning med Hensyn til Begrebet »Dextrin«.

For at afgjøre dette, maatte man ved et stort Overskud af Diastase drive Sukkerdannelsen saa vidt, at al Jodreaktion forsvandt, dernæst fjærne største Delen af Sukkeret ved Gjæring eller Fældning med Vinaand og underkaste det tilbageblevne Dextrin en

fornyet Paavirkning af Diastase. 250 Grm. Stivelse blev, efter at være omdannet til Klister, behandlet med 400 Kub. Cent. Maltudtræk i over en Time og derefter kogt. Opløsningen indeholdt 8 % Tørstof og 4 % Sukker (6 % Maltose), altsaa R = 50. Med Jod gav den kun en svag gul Farve. Af en ved gjentagne Sigtninger og Slemninger vel renset Undergjær blev der nu tilsat saameget, at Gjærens Tørstof udgjorde 2—3 % af Maltose-Dextrinet. Efter ca. 8 Dages Henstand ved 15° var Gjæringen forbi, og Vædsken havde klaret sig. Efter Filtration, Bortkogning af Vinaanden, nøjagtig Neutralisation af den frie Syre, der var dannet ved Gjæringen og passende Fortynding med Vand, fandtes denne Vædske at indeholde 2,86 % Tørstof og 0,37 % Sukker, ɔ: R = 13. Vi have altsaa her en Forsøgsvædske, der omtrent stemmer overens med den fra Forsøg A, hvad Sukkermængden angaar, men hvis Dextrin er af en anden Beskaffenhed. Yderligere Rensning af Dextrinet ved Fældning med Vinaand blev ikke foretaget.

100 Kub. Cent. blev nu digereret med forskjellige Mængder Maltudtræk (i 20 Minutter ved 57°), og Sukkertilvæxten bestemt. Forsøgene vare følgende:

				Sukkertilvæxt.
100 Kub. Cent. Dextrinopløsn.	+	0,5 Kub. Cent. Maltudtræk		0,03 Grm.
—	+	2 —	—	0,03 -
—	+	5 —	—	0,04 -
—	+	10 —	—	0,04 -

Som man ser, er Diastasens Indvirkning paa det ikke-jodfarvende Dextrin, Achroodextrin, yderst ringe, selv efter at Sukkeret for største Delen er fjærnet, og Striden mellem Payen og Musculus om dette Punkt maa altsaa bestemt afgjøres til Fordel for den sidste[1]).

Ved Betragtning af de forskjellige Kurver i første Afsnit har man set, at Achroodextrinet (eller-dextrinerne), selv ved Tilstedeværelse af store Mængder Sukker, lidt efter lidt giver efter for Diastasen, og er denne Virkning end kun svag, er den dog mindst lige saa kraftig som den, vi i de ovenforstaaende Forsøg have set Diastasen udøve paa det næsten sukkerfrie Achroodextrin. Naar man altsaa finder en Eftervirkning af Diastasen under Gjæringen i Brænderierne, saavelsom i Payens Forsøg, er denne vistnok ikke betinget af, at Sukkeret fjærnes, men skyldes kun den lange Tid, hvori Diastasen faar Lejlighed til at virke. Ved Henstand af

[1]) Musculus hævder ogsaa i sine sidste Arbejder Tilstedeværelsen af »dextrines inattaquables«.

Mæsken i lige saa lang Tid og under forøvrigt lige Betingelser, men uden Gjæring, vilde Omdannelsen til Sukker sikkert naa det samme Omfang, forudsat naturligvis, at indtrædende Forraadnelse ikke virkede forstyrrende ind herpaa.

Det vil i det følgende blive vist, at Diastasen er saa særdeles ømtaalig overfor visse frie Syrer og for Alkalier, at de kunne kjendelig formindske Sukkerdannelsen, selv om de ere tilstede i saa smaa Mængder, at de ikke paa nogen Maade, og navnlig ikke med Lakmospapiret, lade sig paavise. Som nævnt pag. 170, blev den frie Syre, der dannedes ved Gjæringen, neutraliseret med Natron, og man kunde da fremsætte den Indvending mod de ovenstaaende Forsøg, at der, trods al Omhu ved Neutralisationen, kunde være nogen fri Syre eller frit Alkali i Vædsken, naar Diastasen blev tilsat, som kunde tilintetgjøre dennes Virkning, om det end ikke gav sig tilkjende ved Lakmospapiret. Ihvorvel det nu ikke var sandsynligt, at Uvirksomheden af saa store Mængder Maltudtræk, som der er anvendt i nogle af disse Forsøg, skulde kunne stamme fra et sligt Spor af Syre, blev der dog for Sikkerheds Skyld anstillet følgende Forsøg:

100 Kub. Cent. Dextrinopløsning blev blandet med 100 Kub. Cent. almindelig Forsøgsvædske og saccharificeret med 2 Kub. Cent. Maltudtræk. Sukkertilvæxten fandtes her at være 0,50 Grm. (Reduktionsevnen af Forsøgsvædsken er stegen fra 11,5 til 26). Vi have her benyttet selve Sukkerdannelsen som Reagens paa neutral Reaktion i Dextrinopløsningen og fundet, at Tilstedeværelsen af den ikke har forhindret Maltudtrækket fra at øve en kraftig Virkning paa den almindelige Forsøgsvædske.

2. Fortyndede Syrer og Alkalier.

En særlig energisk Virkning udøve fortyndede Syrer og Alkalier paa Diastasen, og der er herved mange interessante, men ogsaa mange uopklarede Forhold tilstede. Nedenstaaende Forsøg kunne tjene til at give et omtrentligt Begreb om disse Virkninger, der forøvrigt kunne variere ikke lidet under tilsyneladende uforandrede Betingelser.

Af en $\frac{1}{40}$ normal Svovlsyre (1 Kub. Cent. = 1 Milligram SO_3) blev der sat forskjellige Mængder til 8 Portioner Forsøgsvædske à 100 Kub. Cent., hvorpaa Sukkerdannelsen foretoges paa sædvanlig Maade med 0,75 Kub. Cent. Maltudtræk. Sukkertilvæxterne vare følgende:

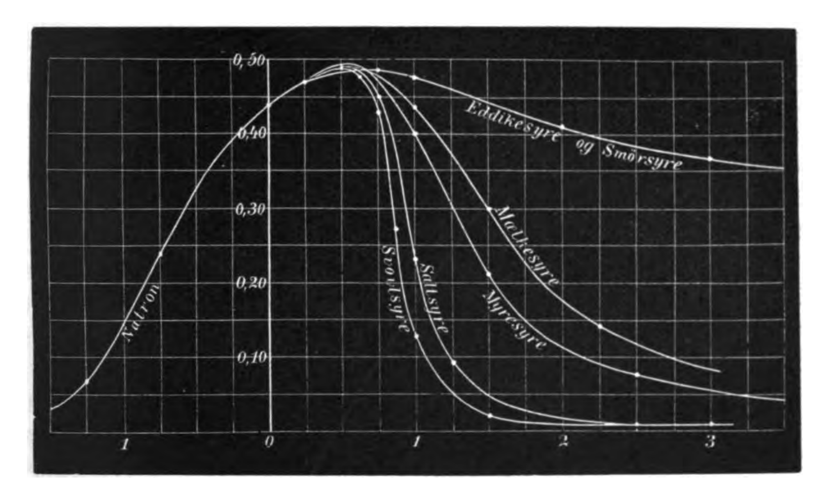
Kub. Cent. 1/40 normal Svovlsyre.	Sukkertilvæxt.
0	0,44 Grm.
1	0,47 —
2	0,49 —
$2^1/_2$	0,48 —
3	0,43 —
$3^1/_2$	0,27 —
4	0,18 —
6	0,02 —
10	0,01 —

Det ses heraf, at en ringe Mængde Svovlsyre har forøget Diastasens Virkning, men at denne derefter, naar dette gunstige Punkt overskrides, aftager overordentlig hurtigt. Det er forbausende smaa Syremængder, der paa denne Maade endnu give sig tilkjende ved Forandringer i Sukkerdannelsen. Saaledes vil en Forøgelse fra 3,4 til 3,6 Kub. Cent. $^1/_{40}$ normal Svovlsyre ($^1/_5$ Milligram SO^3) nedsætte Sukkertilvæxten med 0,1 Grm.; en Formindskelse i Sukkerdannelsen paa 5 Milligram, der endnu tydelig kan paavises ved Analysen, vil altsaa hidføres ved, at Syremængden i 100 Kub. Cent. Forsøgsvædske forøges med $^1/_{100}$ Milligram.

At Svovlsyren i den her anvendte, meget fortyndede Tilstand ikke selv har kunnet foranledige nogen Sukkerdannelse, fremgaar af, at Virkningen ved 10 Kub. Cent. Syre var endnu lidt ringere end ved 6.

Den gunstige Indflydelse af en ringe Mængde Svovlsyre paa Sukkerdannelsen er allerede paavist af Leyser (»Der Bayrische Bierbrauer«, 1869, pag 30). Vi have altsaa i denne og i andre fortyndede Syrer Exempler paa Stoffer, som give Kurver af Typen D (jvfr. pag. 167). Disse ere, med flere, anlagte paa Planen pag. 173, hvor Ordinaterne ere Sukkertilvæxter, medens Abscisserne ere Kub. Centimeter $^1/_{10}$ normal Syre, som man har tilsat. I alle Forsøgene er der taget 100 Kub. Cent. Forsøgsvædske og 0,75 Kub. Cent. Maltudtræk (1: 4).

Der er saaledes gjort Forsøg med et større Antal Syrer, af hvilke de vigtigste findes anførte paa Planen pag. 173. Man vil saaledes her finde en Kurve for Saltsyren, der viser en lignende, om end lidt svagere, Virkning af denne Syre, som af Svovlsyren. Af andre uorganiske Syrer er der anstillet Forsøg med Salpetersyre og Fosforsyre; den første giver en Kurve, som ligger mellem Svovlsyrens og Saltsyrens, den sidste en, som falder noget udenfor Saltsyrens. Fosforsyren blev særlig medtaget, fordi man hos denne



Indvirkning af Syrer og Alkalier paa Diastase.

Syre, der jo, som bekjendt, viser et fra de øvrige Mineralsyrer afvigende Forhold overfor Æggehvidestofferne, idet den ikke koagulerer Albumin, kunde vente ogsaa at træffe en særegen Virkning — eller Mangel paa Virkning — overfor de Æggehvidestofferne nærstaaende Fermenter. Denne Antagelse har dog ikke bekræftet sig, idet Fosforsyren vel virker noget svagere end de 3 andre Mineralsyrer, men Forskjellen ikke er større, end det var at vente af dens Karakter som en noget svagere Syre end disse[1]).

Af de undersøgte organiske Syrer har Myresyren udøvet den kraftigste Virkning, om den end, hvad der i endnu højere Grad er Tilfældet med Resten, staar betydeligt tilbage for de uorganiske Syrer. Gaar man fra Myresyren over til den i kemisk

[1]) For at være sikker paa at have Fosforsyren i den 3-basiske Tilstand, blev den fremstillet i Laboratoriet ved Dekomposition af fældet fosforsurt Blyilte med Svovlbrinte. Styrken af den herved erholdte Opløsning blev bestemt ved en Vægtanalyse (efter Fældning som fosforsur Magnesia-Ammon), Ved Sammenligning af Fosforsyrens Virkning med de andre Syrers blev Saltet $Na^2 HPO^4$ regnet som det neutrale; 1 Kub. Cent. $^1/_{10}$ normal Fosforsyre skal derefter indeholde 0,00355 Grm. $P_2 O_5$. At bestemme Fosforsyrens Styrke ved Titrering med Natron, lader sig ikke gjøre; den røde Lakmosfarve, der er tydelig, indtil man naar Saltet $Na H_2 PO_4$, gaar fra dette Punkt gjennem en Række violette Nuancer umærkeligt over i det Blaa, der først er temmelig rent, naar der er tilsat Natron nok, til at danne $Na_2 HPO_4$.

Henseende nærstaaende Eddikesyre, vil man saaledes finde en meget stor Nedgang i Virkningen, en Nedgang, der navnlig ved noget større Mængder af begge Syrer er særdeles iøjnefaldende (se Planen). I den Tanke, at Virkningen af de højere Led i den samme homologe Række kunde være endnu ringere, har jeg inddraget Smørsyren i Undersøgelsen; Virkningen af denne faldt imidlertid i alle Tilfælde sammen med Eddikesyrens, saa at den for begge Syrer udtrykkes ved en fælles Kurve paa Planen pag. 173. Endelig er der af organiske Syrer anstillet Forsøg med Mælkesyre, hvis Virkning man paa Planen vil finde gjengivet ved en Kurve, som falder mellem Eddikesyrens og Myresyrens, nærmest den sidste.

Frie Alkalier udøve en stærk nedsættende Indflydelse paa Sukkerdannelsen. Det synes, som om der fra det første Spor af Alkali finder en Nedgang Sted, og ved 1,5 Kub. Cent. $^1/_{10}$ normal Natron er Virkningen næsten ophørt; vi have altsaa her det første Exempel paa en Kurve af Typen C. For Oversigtens Skyld er Kurven for Natron (der forøvrigt ikke er tilstrækkelig bestemt) anbragt paa samme Plan som Syrekurverne, men tilvenstre for Ordinataxen, idet Natronmængderne (i Kub. Cent. $^1/_{10}$ normal) ere udtrykte ved de negative Abscisser.

De smaa Forandringer i Reaktion, der fremkalde disse store Svingninger i Sukkerdannelsen, gjøre det ofte vanskeligt, at erholde overensstemmende Resultater ved disse Forsøg. En Vanskelighed, der navnlig gjør sig gjældende, er den sure Reaktion, som findes hos Stivelsen, og som ikke lader sig helt fjærne ved nok saa lang Udvaskning. Denne Reaktion var ialmindelighed ikke stærkere, end at man, for at se den, maatte udrøre Stivelsen med Vand til en tyk Grød og trykke Prøvepapiret ned herimod, men den samme Reaktion beholder det efter at være dekanteret 25—30 Gange og derefter udvasket gjentagne Gange paa Filter med destilleret Vand. Om en Neutralisation af dette Spor kunde der ej heller vel være Tale. Forsøgsvædsken vil altsaa almindeligvis, selv om den reagerer neutral, indeholde et Spor af Syre fra Stivelsen (Syren i det ved Tilberedningen benyttede Maltudtræk var iforvejen mættet med Natron; 100 Kub. Cent. tog i Regelen ca. 9 Kub. Cent. $^1/_{10}$ norm. N.). Dette Spor vil kunne udøve en kjendelig Indflydelse paa Sukkerdannelsen og altsaa bevirke, at Ordinataxen paa Planen pag. 173 flyttes noget til den ene eller den anden Side. Naar Forsøgsvædskens egen Syre saaledes forøgedes med $^1/_{20}$ Kub. Cent. Normalsyre pr. 100 Kub. Cent., vilde Ordinataxen derved flyttes 0,5 tilhøjre, og da alle Kurverne begynde at falde omtrent fra

dette Punkt, vilde man forledes til at antage en ubetinget skadelig Virkning af Syrerne, altsaa henføre dem til Gruppen C istedetfor D (jvfr. pag. 167). Dette var saaledes Tilfældet ved mine første Forsøg herover, hvor jeg allerede fandt en kjendelig Nedgang efter Tilsætning af 1 Kub. Cent. $^1/_{40}$ normal Saltsyre, o. s. v., en Afvigelse, jeg ikke kan tænke mig nogen anden Grund til, end den nævnte. Da det ikke vel er tænkeligt, at Forsøgsvædsken skulde overskride Neutralitetspunktet til den anden Side, ɔ: indeholde frit Alkali, vil Ordinataxen næppe kunne ligge længere tilhøjre, men muligvis endnu mere tilvenstre, end den paa Planen angivne Stilling.

Men afset fra disse Vanskeligheder, synes det, som om Virkningen af Syrerne paa forskjellige Maltudtræk kan være noget variabel. Saaledes kan Virkningen af en og samme Syre være noget større eller mindre paa to Udtræk, der i andre Henseender forholde sig ens. Ligesaa med Virkningen af Alkalier. Heller ikke er det indbyrdes Forhold mellem de forskjellige Syrer, som Kurverne paa Planen angive, altid ganske uforandret. Jeg har saaledes fundet enkelte Udtræk, paa hvilke Saltsyre havde en lige saa stærk Virkning som Svovlsyre, eller hvor Myresyre ikke virkede kraftigere end Mælkesyre, o. s. v., uden at et saadant Udtræk i andre Henseender syntes at adskille sig fra de almindelige.

3. Salte af vægtfyldige Metaller.

I denne og den følgende Afdeling er der kun gjort nogle spredte Forsøg, alle med 100 Kub. Cent. Forsøgsvædske, og 0,75 Maltudtræk, ligesom i de foregaaende.

Blysalte.

Efter Tilsætning af 0,100 Grm. salpetersurt Blyilte var Sukkertilvæxten 20 % af den, som fremkom uden Tilsætning.

Zinksalte.

0,100 Grm. svovlsurt Zinkilte nedsatte Sukkertilvæxten til 18 %.

Jernsalte.

0,100 Grm. svovlsurt Jernforilte nedsatte den til 12 %.

Mangansalte.

Til Forsøgsvædsken sattes 0,500 Grm. krystalliseret svovlsurt Manganforilte. Efter Sukkerdannelsen maa Mangansaltet fjærnes af Opløsningen, da det svovlsure Manganforilte selv reducerer Fehlings Vædske (Forskjel fra Jernforiltesalte), og Resultaterne af Sukkerbestemmelsen altsaa vilde falde meget for højt ud. Dette kan lettest ske paa følgende Maade: efter Afkogning fældes Manganet med Svovlammonium i saa lille Overskud som muligt, det hele fyldes op til 130 Kub. Cent. og filtreres; 50 Kub. Cent. Filtrat

blandes nu med et vist Maal, f. Ex. 5 Kub. Cent. af en Opløsning af svovlsurt Zinkilte, hvorved Overskudet af Svovlammonium fældes som Svovlzink; efter Filtration kan Vædsken, som nu indeholder en vis Mængde Zinksalt, bruges til Sukkerbestemmelsen. Det udskilte Kobberforilte er vel blandet med noget Zinkilte, der fældes ved Kogningen, men denne Omstændighed har ingen Betydning, forsaavidt Bestemmelsen af Sukkeret sker ved Titrering. At fælde Manganet med kulsurt Natron, lader sig ikke gjøre.

Paa denne Maade fandt man her, hvor Sukkerdannelsen var foregaaet i den stærkt manganholdige Vædske, 93 % af den Sukkertilvæxt, som man fik uden Tilsætning.

Efter at have set den stærke Virkning, som Syrerne udøve paa Fermentet, laa den Tanke nær, at Metalsaltenes Virkning for en Del kunde skyldes den Omstændighed, at de næsten alle paa en Maade kunne betragtes som sure Salte, forsaavidt som de farve det blaa Lakmospapir rødt. Det er navnlig til Oplysning herover, at de 3 Forsøg med Zink-, Jern- og Mangansalte ere foretagne, for at se, hvorvidt der skulde findes en paafaldende Forskjel i denne Henseende mellem disse 3 Stoffer, der staa hinanden nær fra et kemisk Standpunkt, men hvoraf de to førstes Salte have sur, Manganets derimod neutral Reaktion. Som man ser, synes Forsøgene at bekræfte den udtalte Formodning, idet Mangansaltet har været næsten uden Virkning, skjøndt man deraf havde tilsat 5 Gange mere end den Zink- eller Jernmængde, der var istand til for største Delen at standse Sukkerdannelsen.

4. Forskjellige andre Salte.

Naar Sukkertilvæxten uden Tilsætning sættes = 100, var den efter Tilsætning af:

0,013	Grm.	Borax	60,
0,050	—	—	5,
0,100	—	Alun	2,
0,500	—	arsensurt Natron	20,
0,500	—	Chlornatrium	90.

Forsøgsvædsken henstod i nogle Dage under jævnlig Omrystning med et Overskud af fældet svovlsur Kalk. Den kunde nu betragtes som en mættet Gipsopløsning og gav en Sukkertilvæxt paa 88 %.

I alle Tilfælde fandt der altsaa Formindskelse af Sukkerdannelsen Sted. Ved de neutrale Salte, Gips og Chlornatrium, var den imidlertid højst ubetydelig, skjøndt de vare tilsatte i forholdsvis stor Mængde. Ved Borax og Alun er Virkningen derimod langt kraftigere, og det synes rimeligt, at dette mere skyldes deres

Egenskab af sure Salte, end nogen specifik giftig Virkning. En saadan maa man derimod forudsætte hos det arsensure Natron, hvis Virkning forøvrigt er temmelig svag.

5. Karbolsyre. Salicylsyre.

Til Forsøgsvædsken blev der sat 5 Kub. Cent. af en 4 % Karbolsyreopløsning = 0,200 Grm. Karbolsyre; Sukkertilvæxt 89 %. Med den dobbelte Mængde Karbolsyre fik man en Sukkertilvæxt paa 70 %.

Med 0,030 Grm. Salicylsyre var Sukkertilvæxten kun 10 %, med 0,100 Grm. var den 0.

Disse 2 Stoffer, der begge udøve en saa dræbende Virkning paa de organiserede Fermenter, forholde sig altsaa forskjelligt overfor Diastasen, idet Salicylsyren virker som en kraftig, Karbolsyren som en meget svag »Gift«. Naar dette sammenholdes med, at den første er en udpræget Syre, medens Karbolsyren kun tildels har en Syres Karakter, vil man vistnok heri kunne finde tilstrækkelig Forklaring for deres Virkning paa Diastasen, uden at man behøver at sætte denne i Forbindelse med disse Stoffers antiseptiske Egenskaber.

6. Alkaloider.

Blandt disse blev kun Virkningen af Strychnin som salpetersurt Salt prøvet i Doser fra 0,010 til 2,250 Grm. I intet Tilfælde fandt der herved en Formindskelse af Sukkertilvæxten Sted, men som oftest endogsaa en svag Forøgelse (102—105 for 100).

Det diastatiske Ferment, der paavirkes af saa mange uorganiske Giftstoffer, bliver saaledes ganske uberørt af denne meget stærke organiske Gift. Der findes heri en Analogi med flere lavere Organismer, f. Ex. Gjær.

7. Vinaand.

Undersøgelsen af Vinaandens Forhold imod Diastasen har for saavidt praktisk Betydning, som der ved den Eftervirkning af Diastasen, der foregaar under Brændevinsgjæringen, er en anselig Mængde Vinaand tilstede.

Til at undersøge Virkningen af et saadant flygtigt Stof, kunde den sædvanlige Fremgangsmaade naturligvis ikke uden videre benyttes. Den blev derfor ændret saaledes, at man istedetfor Bægerglas tog en Kogeflaske med en 3 Gange gjennemboret Kautschukprop; gjennem det ene Hul gik et opadstigende Svalerør, hvori Vinaanddampene bestandig fortættedes og fløde tilbage i Flasken;

gjennem det andet gik et Thermometer. Det 3die Hul holdtes lukket med en Glasprop, indtil Vædsken i Flasken havde antaget den rette Temperatur af ca. 60°. Glasproppen toges da bort, medens man med en Pipette førte Maltudtrækket ned i Flasken, og sattes derpaa atter hurtigt i. Efter 20 Minutters Forløb blev Vædsken afkogt i Kogeflasken. To Forsøg, der udførtes, det ene paa sædvanlig Maade, det andet, som her beskrevet, gave nøjagtig samme Resultat.

	Sukkertilvæxt.
100 Kub. Cent. Forsøgsvædske + 0,75 Maltudtræk, uden Tilsætning	0,53 Grm.
» + » + 10 Kub. Cent. Vinaand à 93 % Tr.	0,28 —

Vinaanden har altsaa bragt Sukkertilvæxten ned til det halve. Den er saaledes vel ikke uden Indflydelse paa Diastasen, men man maa dog, naar der ses hen til den store Mængde Vinaand i Forhold til den ringe Mængde Maltudtræk, betegne den som en meget svag »Gift«. 10 Kub. Cent. Vinaand har næppe virket saa stærkt som 1 Milligram Svovlsyre.

Undersøgelser over Ptyalin (Spytdiastase).

Som bekjendt, udviser Spyt overfor Stivelseklister et lignende Forhold som Maltudtræk, idet det, tilsat i forholdsvis ringe Mængde, er istand til at opløse Klister under Dannelse af Sukker og Dextrin. Denne Egenskab ved Spyttet spiller en ikke uvæsentlig Rolle ved Fordøjelsen af stivelseholdige Næringsmidler, navnlig forsaavidt de nydes i kogt Tilstand, og Stivelsen altsaa er bragt over i den klisteragtige Form. Fermentet i Spyt (Ptyalin eller Spytdiastase) virker nemlig ligesom Maltdiastasen kun svagt paa Melstof i den uforandrede Tilstand, medens det allerede i Kulden, og i endnu højere Grad ved Legemets Temperatur, virker energisk opløsende paa det klisteragtige Melstof. Opløsningen foregaar her ligesom ved Maltudtræk i Løbet af ganske faa Minutter, naar man anvender en lidt forhøjet Temperatur, og der vil derfor være Lejlighed for Spytdiastasen til Opløsning af de klisterholdige Fødemidler i den Tid, hvori den kan paavirke dem under Tygningen og Synkningen.

Det synes klart, at den Methode, vi have anvendt til Studiet af Maltdiastasens Mængde og Egenskaber, ogsaa maa egne sig for en nærmere Undersøgelse af Spytfermentet. Ihvorvel et saadant

Arbejde nærmest henhører under Dyrefysiologien og derfor ligger temmelig fjærnt fra de Undersøgelser, der skulle foretages paa Carlsberg-Laboratoriet, staar dog det omtalte Ferment i saa nær Forbindelse med Maltdiastasen, at man ved et Studium af det ene uvilkaarlig maa ledes til at medtage det andet.

Jeg har derfor ikke kunnet undlade at foretage nogle Forsøg over Spytdiastasens sukkerdannende Evne, og skal her meddele de Resultater, hvortil jeg er kommen, ihvorvel de aldeles ikke kunne betragtes som udtømmende, men blot som orienterende.

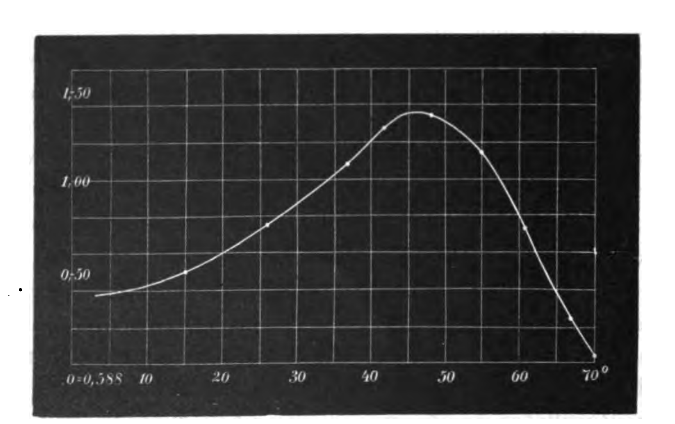
Forsøgene ere gjorte med Mundvædske af Mennesker, som altsaa har indeholdt Afsondringerne fra de forskjellige Spytkjertler, blandede med hverandre. Det er muligt, ja vel endog sandsynligt, at Fermentet fra disse Kjertler kan være forskjelligt med Hensyn til Mængde og Egenskaber; ved mere indgaaende Undersøgelser burde man vel søge at opsamle Sekretet fra hver Kjertel for sig. Paa den anden Side vise dog mine Forsøg, der ere blevne gjentagne ret hyppigt, en vis Ensartethed, visse Ejendommeligheder, der bestandig gjentoge sig, saa at man maa antage, enten at de forskjellige Sekreter ved alle Forsøgene have været blandede i et temmelig ligeligt Forhold, eller ogsaa at de i Henseende til Fermentevne ikke ere meget indbyrdes forskjellige.

Den i Forsøgene benyttede Mundvædske er altid taget fra samme Individ; det kunde dog sikkert ikke være uden Interesse ved en større Række Forsøg at faa konstateret, hvorvidt der kan findes individuelle Forskjelligheder, navnlig med Hensyn til Fermentets Mængde hos forskjellige Personer, og indenfor hvilke Grændser denne kan antages at variere; navnlig synes det at kunne have Betydning at prøve, om der skulde være nogen gjennemgaaende Forskjel i Spyttets Fermentevne efter Individets forskjellige Alder. Endvidere forekommer det mig ikke usandsynligt, at man skulde kunne finde pathologiske Forskjelligheder, f. Ex. under Fordøjelsessygdomme o. lign., — stærk Salivasion vil vel heller næppe undlade at virke forandrende paa Fermentet. Det vilde næppe være uvigtigt at anstille Forsøg over Fermentet hos Dyr, da man jo her i Almindelighed lettere kan tilvejebringe Forsøgsbetingelser, som kunne kontrolleres. Der synes saaledes at være ikke faa Spørgsmaal, som frembyde sig, og som efter den tidligere udviklede Methode uden Vanskelighed ville kunne besvares. Endnu vigtigere Resultater kunde man vente at komme til ved en tilsvarende Undersøgelse af Pankreasfermentet, der har en lignende, men langt kraftigere, Virkning paa Stivelse, som Ptyalinet, og som spiller en meget større Rolle ved Ernæringen end dette.

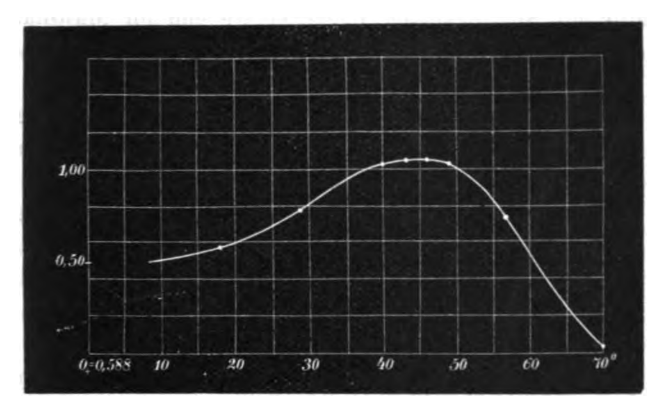
Til Forsøgene er benyttet den pag. 154 omtalte Forsøgsvædske, der indeholdt 3,31 % Tørstof og 0,294 % Sukker. Der er hver Gang taget 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske, som efter Forsøget suppleredes til $^1/_4$ Litre. Planen for Undersøgelserne er den samme som ved Maltdiastasen, kun er den ikke bleven fulgt i saa stort et Omfang, som ved denne.

Først søgte man at finde Optimumstemperaturen for Spytdiastasen og overhovedet Varmegradens Indflydelse paa dens Virksomhed, der blev, kort sagt, konstrueret en Varmekurve for dette Ferment, ligesom det pag. 139 er sket for Maltdiastasen. Jeg har gjennemført flere slige Forsøgsrækker, alle med den samme Mængde Mundvædske, nemlig 1 Kub. Cent. Spyttet blev samlet og vejet i et tareret Bægerglas, og dertil blev sat 9 Gange saa meget destilleret Vand. Vædskerne blandedes ved god Omrøring; af den saaledes fortyndede Fermentopløsning blev der brugt 10 Kub. Cent. til hvert Forsøg, hvilket svarer til 1 Kub. Cent. ufortyndet Spyt, da dettes Vægtfylde kun er lidet forskjellig fra 1 (1,003). Forsøgsvædsken var i Forvejen opvarmet til lidt over den forønskede Temperatur, og Forsøgene bleve i det hele anstillede ganske paa den tidligere omtalte Maade; Digestionens Varighed var, ligesom pag. 139, 15 Minutter. Nedenfor vil man finde de til to Forsøgsrækker svarende Kurver; Temperaturerne ere Abscisser, Sukkertilvæxterne Ordinater; Reduktionsevnen er ikke stegen over 30.

A.



B.



Indvirkning af 1 Kub. Cent. Spyt paa 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske i 15 Minutter ved variabel Temperatur.

A

Temperatur.	Sukkertilvæxt.
15°	0,50 Grm.
26°	0,78 —
37°	1,08 —
42°	1,28 —
48°	1,35 —
55°	1,15 —
61°	0,73 —
67°	0,25 —
70°	0,05 —
72°	0,00 —

B

Temperatur.	Sukkertilvæxt.
18°	0,58 Grm.
29°	0,78 —
40°	1,03 —
43°	1,04 —
46°	1,05 —
49°	1,02 —
56½°	0,75 —
70°	0,04 —

Som man vil se, have de to Fermentopløsninger ikke givet ganske samme Resultat, hvilket jo ifølge det foregaaende ikke kan forundre. Den Spytblanding, hvis Virkning er gjengivet ved Kurven A, har i det hele virket kraftigere end den med Kurven B, dog har denne ved de lavere Temperaturer frembragt en noget større Mængde Sukker end den første. Imidlertid stemme de begge overens deri, at Optimumstemperaturen ligger ved omtrent 46°; derfra aftager Virkningen jævnt til begge Sider, noget stærkere ved en Forøgelse end ved en Formindskelse af Varmegraden. Spytdiastasens Optimum ligger altsaa 17° lavere end Maltdiastasens og ikke meget højere end den Temperatur, hvorunder det virker i Legemet. Denne Forskjel mellem de to beslægtede Fermenter er særdeles iøjnefaldende, da Ptyalinets Virkning ved 63°, Diastasens

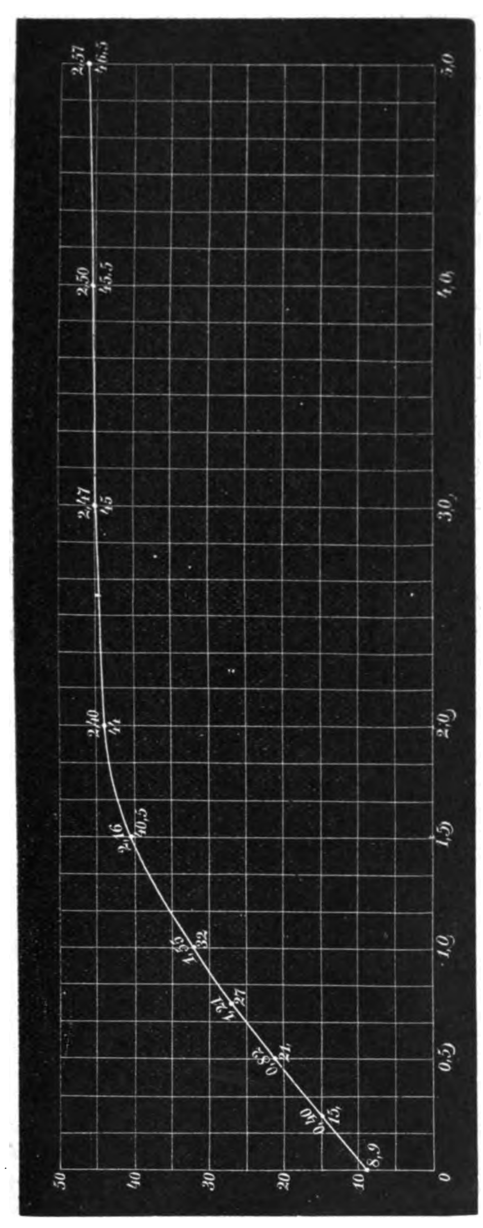
Optimum, allerede er i høj Grad formindsket. At den heldigste Temperatur for Spytdiastasen ligger lavere end for Maltdiastasen, har forøvrigt længe været bekjendt, men jeg har ikke truffet nogen bestemt Angivelse om, hvor det egentlige Optimum skulde søges. I disse to Forsøgsrækker ligger det altsaa ved 46^{0}, og jeg har i flere andre fundet den største Virkning ved 44—48^{0} og navnlig altid større end ved 37^{0}, Mundhulens Temperatur. Imidlertid tør jeg, da de to her anførte Kurver ikke vise sig ganske ligedannede, jo ikke benægte, at man med andre Spytblandinger maaske ogsaa kunde faa Kurver, hvori Optimum laa paa et andet Punkt, men jeg antager dog, at Forskjellighederne ogsaa i saa Henseende næppe vil være store. At man derimod ved Forsøg med Dyrespyt muligvis vilde komme til ganske andre Kurver, er ikke utænkeligt.

Angaaende Forholdet mellem Mængden af Fermentet og det derved dannede Sukker har jeg ved flere Forsøg paavist, at Ptyalinet i denne Henseende giver ganske de samme Resultater som Maltdiastasen. Der optræder ogsaa her Sukker i Vædsken samtidig med de første Tegn til Opløsning, frembragte ved en ganske ringe Mængde Spytdiastase. Ved forøget Tilsætning af denne tiltager ogsaa Sukkermængden, i Begyndelsen i et med Fermentmængden proportionalt Forhold; efterhaanden bliver dog Tilvæxten af Sukker forholdsvis svagere, og endelig, naar Reduktionsevnen er stegen til 44—46, yderst ringe, saa at man nu kan lade Fermentmængden voxe meget betydeligt, uden at Reduktionsevnen tiltager i nogen kjendelig Grad.

I den ved Kurven pag. 183 fremstillede Forsøgsrække har man ladet Mængden af Spyt variere fra 1/4 til 5 Kub. Cent. Til hvert Forsøg er der taget 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske, og Digestionen er fortsat i 20 Minutter. Kurven viser den fuldstændigste Analogi med den dertil svarende Maltkurve pag. 133. Ligesom i denne er her Reduktionsevnen Ordinater, Fermentmængden Abscisser; ved hvert gjennem Forsøg bestemt Punkt i Kurven findes anført Reduktionsevnen (under Kurven) og Sukkertilvæxten (over samme). Vi finde heraf, at Sukkertilvæxten, ligesom ved Maltdiastasen, er proportional med Fermentmængden, indtil Reduktionsevnen er naaet op til henimod 30, hvorfor Kurven indtil dette Punkt ikke afviger betydeligt fra den rette Linie, at den fra nu af begynder at krumme sig mere og mere mod Abscisseaxen, indtil den, naar Reduktionen er naaet til 44, bliver en med denne Axe næsten parallel Linie, der kun stiger ganske svagt, saa at en Forøgelse af Spytmængden fra 2 til 5 Kub. Cent. kun har kunnet

forøge Reduktionsevnen fra 44 til 46,5 (en Sukkertilvæxt = 0,017 Grm.). Den for Undersøgelserne over Diastasen saa vigtige »Lov om Proportionaliteten» gjælder altsaa uden Forandring for Ptyalinet, og den Methode. vi have anvendt til Undersøgelsen af Maltdiastasens Mængde og forskjellige Egenskaber, lader sig derfor uden videre benytte til den samme Analyse af Spytdiastasen.

Rækker af Maalinger af Spyttets Fermentevne ere ikke blevne udførte. Hosstaaende Kurve viser, at denne er meget betydelig, og vi kunne danne os en Forestilling om Størrelsen deraf, ved at sammenligne denne Kurve med den pag. 151, som gjælder for Maltudtræk; disse Kurver lade sig meget vel sammenligne, da de ere bestemte ved samme Digestionstid (20 Minutter) og ved Optimumstemperaturen for begge de paagjældende Fermenter (Maltdiastasen pag. 151 ved 56°, Spytdiastasen pag. 183 ved 46°). Vi se da, at 0,5 Kub. Cent. Spyt har frembragt samme Sukkermængde (0,80 Grm.), som 1,15 Kub. Cent.



Indvirkning af variable Mængder Spyt paa 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske i 20 Minutter ved 46°.

Udtræk af 1 Del Kollemalt og 4 Dele Vand, idet begge have virket ved den for hver især gunstigste Temperatur. For af dette Malt at tilberede et Udtræk, der kunde virke lige saa stærkt paa Stivelseklister, som Spyt, maatte man til 10 Dele Malt kun have taget 17 Dele Vand; det vil altsaa ses, at Spyttet har virket som et i høj Grad koncentreret Maltudtræk.

Hvorvidt Spytdiastasen hæmmes i sin Virkning af de samme Stoffer, som have en giftig Virkning paa Maltdiastasen, kan jeg af Mangel paa Forsøg ikke besvare, men efter den store Lighed, som findes mellem de to Fermenter, synes dette jo rimeligt nok. En Iagttagelse i denne Retning har jeg gjort; den stærke Indflydelse, som fortyndede Syrer udøve paa Sukkerdannelsen ved Maltdiastase, gjenfinde vi ved Ptyalinet. Følgende Forsøg viser dette: til 200 Kub. Cent. Forsøgvædske blev der sat 5 Kub. Cent. fortyndet Saltsyre = 10 Milligram Chlorbrinte. 1 Kub. Cent. Spyt, som ved 20 Minutters Indvirkning paa 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske gav en Sukkertilvæxt paa 1,55 Grm., frembragte i den syreholdige Vædske ikkun 0,012 Grm. Sukker.

En Tilsætning af 10 Milligram Chlorbrinte til 200 Kub. Cent. Forsøgsvædske har altsaa været tilstrækkelig til ganske at tilintetgjøre Ptyalinets sukkerdannende Evne, og der er altsaa ogsaa i denne Henseende en fuldstændig Lighed mellem de to Fermenter.

Undersøgelser

anstillede i Carlsberg Laboratoriets fysiologiske Afdeling[1])

af

Emil Chr. Hansen.

I.

Bidrag til Kundskab om hvilke Organismer, der kunne forekomme og leve i Øl og Ølurt.

1. Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt.

(Første Meddelelse).

Historisk Indledning.

Skjøndt Undersøgelserne over de for det blotte Øie usynlige Skabninger i Luften høre til de vanskeligste Opgaver og navnlig stille store Krav til fortrinlige Instrumenter, ere de dog med Iver i en lang Række Aar blevne dyrkede og kunne endog forfølges to Hundrede Aar tilbage til den berømte, hollandske Mikroskopiker Leeuwenhoek. Omtrent Hundrede Aar derefter skrev vor store Naturforsker Otto Fridrich Müller sit epokegørende Værk, Animalcula Infusoria, og efter ham var det navnlig Ehrenberg, som med sjelden Kraft og Dygtighed fortsatte Studiet af de laveste Organismer. I en længere Aarrække foretog denne Forsker ogsaa mikroskopiske Analyser af det »i Atmosfæren værende, usynlige, rige, organiske

1) Nogle af disse Undersøgelser bleve paabegyndte i Universitetets fysiologiske Laboratorium, og de indeholdes alle med Undtagelse af en i min Afhandling for den filosofiske Doktorgrad, »Organismer i Øl og Ølurt«. Af Hensyn til Tidsskriftet har jeg foretaget en Omgrupering og paa enkelte Steder en Forkortning; i nogle Tilfælde blev jeg ved fortsatte Undersøgelser i Stand til at meddele en og anden Tilføjelse. Beretningen om Luftningsforsøgene er ny.



Liv«, og hans i det Følgende citerede Arbejde er endnu, uagtet dets Fejl, af stor Betydning. I 1854 udfandt Schrøder og Dusch, at man ved Hjælp af Bomuld er i Stand til at filtrere Luften, og senere anvendte Pasteur meget sindrigt hertil Skydebomuld, som han efter Filtrationen opløste i en Blanding af Vinaand og Æther, hvorved de indesluttede, fra Luften filtrerede Organismer og Smaapartikler bleve ladte tilbage saaledes, at de kunde underkastes en mikroskopisk Prøve. 1860 traadte Pouchet frem med sit Aëroskop, hvorved Luften føres hen over en f. Ex. med Glycerin bestrøgen Glasplade og her afsætter sit Indhold. 1875 offentliggjorde Cohn en Række Undersøgelser i den nævnte Retning, foretagne efter en ny Methode, nemlig ved en Udvaskning af Luften, idet han ved Hjælp af en Aspirator ledede den igjennem en Næringsvædske, der var af en saadan Art, at de tilbageholdte, mikroskopiske Organismer kunde udvikle sig deri.

Der er i den nyere Tid anstillet mangfoldige Undersøgelser over Luftens Mikroorganismer, og de have i Reglen været beregnede paa at skaffe Oplysning om Epidemiernes gaadefulde Oprindelse. Mange af disse Arbeider have imidlertid hverken videnskabelig eller praktisk Betydning.

Til de i det Foregaaende nævnte gode Navne skal endnu føjes et, nemlig Tyndall's. Det kan dog ikke være min Hensigt at gjennemgaa hans bakteriologiske Arbejder, men jeg maa indskrænke mig til at meddele det Hovedresultat, som han opnaaede ved sine Studier over de i Luften indeholdte Former. Han fandt, at deres Fordeling er forskjellig saavel i Henseende til Kvalitet som til Kvantitet og kommer til den Slutning, at de optræde i Grupper eller Skyer, som blive afbrudte ved Mellemrum, i hvilke de ere sparsommere udbredte.

Den betydeligste Forfatter paa hele dette Omraade er Pasteur[1]), og det var ogsaa nærmest hos ham, at jeg under mine Studier søgte Vejledning. Han bestrider den ofte fremsatte Mening, at Fermentorganismerne bestandig svæve omkring i Luften, og viser, at de derimod meget hyppigere findes aflejrede i Støvet paa de Flasker og Apparater, som den Experimenterende benytter. I Luften ere de, relativt taget, i Almindelighed kun til Stede i ringe

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 33—84. — Note sur la fermentation des fruits et sur la diffusion des germes des levûres alcooliques (Comptes rendus, Tom. 83, 1876, p. 173). — Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation alcoolique. (Lecture faite à l'Académie de Médecine le 26 novembre 1878).

Antal; dette gjælder især om Alkoholgjærsvampene; Skimmelsporer ere derimod hyppige. Ved hans Forsøg blev det ogsaa bevist, at Luftens Indhold af Organismer paa de forskjellige Steder er forskjelligt, saavel i Henseende til de optrædende Formers Mængde som Art, og at hans Laboratorium i høj Grad var rigt paa Gjæringsorganismer. Foruden Skimmelsvampe og Bakterier, hvis systematiske Navne han slet ikke berører, og »Torulaformer«, der i nogle Tilfælde angives nærmest at høre til Saccharomyces Mycoderma og i andre til Dematium, fandt han i sine Forsøg følgende: Mucor racemosus, Sacch. Mycoderma, Sacch. Pastorianus, Sacch. ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Sacch. cerevisiæ, Smørsyre- og Mælkesyrebakterier. Som Næringsvædske benyttede han Ølurt, Vinmost og sukkerholdigt Gjærvand. Disse Vædsker bleve dels heldte i temmelig flade Skaale, som han derpaa udsatte for Luftens Adgang paa de Steder, hvor han ønskede at anstille sin Undersøgelse, og dels i Kolber, hvis Hals var trukken ud i en Spids, der under Vædskens Kogning blev tilsmeltet, efterat Dampene havde drevet den oprindeligt tilstedeværende Luft ud. Naar han senere knækkede Spidsen af der, hvor han ønskede at tage en Prøve af Luften, blev denne indsuget. Om denne Methode bemærker han, at man ikke altid saaledes opfanger Organismer, og at man kun sjeldent faar en Vegetation af Gjærsvampe, thi det indsugede Rumfang Luft er kun lille i Forhold til Gjærsvampenes oftest sparsomme Udbredelse. Der er derimod Udsigt til paa denne Maade at faa en Renkultur, idet ikke sjeldent en eneste eller nogle faa Kim af en og samme Art blive optagne af Næringsvædsken. Det følger af sig selv, at denne bestandigt var steriliseret, og at han vaagede over, at kun det i Luften paa det paagjældende Sted værende Støv kom i Berøring dermed. Efterat Indholdet i Skaalene havde været udsat for Luftens Paavirkning i 24—48 Timer blev det heldt i Kolber med lang Hals, som derpaa bleve lukkede og anbragte i en Thermostat ved 25° C. I de flade Skaale vil en virkelig tilstedeværende Gjæring ofte kunne blive overset. Gjærsvampene formaa heller ikke under disse Forhold at tage det op med Skimmelsvampene.

At der kan findes levende Gjærceller i det i Luften udbredte Støv, har Pasteur ikke blot vist ved de omtalte Experimenter, men tillige derved, at den af ham med Gibspulver sammenblandede og ved almindelig Temperatur tørrede Gjær endnu efter over 7 Maaneders Forløb var livskraftig. Dette smukke Forsøg er blevet gjentaget af Prof. Lintner, Redaktør af »Bayr. Bierbrauer«, og her paa Laboratoriet af Hr. Kapt. Jacobsen. I flere Maaneder,

saavidt jeg erindrer 4—5, holdt Sacch. cerevisiæ sig i de to sidstnævnte Tilfælde levende.

Paa flere Steder i sine Skrifter kommer Pasteur atter og atter tilbage til det mærkelige Fænomen, at kun modne Druer paa deres Overflade bære Gjærsvampe, hvorimod disse bestandigt mangle paa de umodne. Men hvad er Aarsagen hertil? Og hvor findes da Gjærsvampene den øvrige Tid af Aaret? Disse Spørgsmaal besvares ikke; Pasteur har dog sikkert selv stillet sig dem, thi han omfatter de her henhørende Undersøgelser med en særlig Interesse.

Det har ikke været mit Øjemed at give Videnskabens fuldstændige Historie paa dette Omraade, men kun at fremhæve de vigtigste Momenter og da især saadanne, som vise, i hvilket Forhold mit Arbejde staar til Forgængernes.

De anvendte Undersøgelses-Methoder.

I mine Forskninger blev ikke som i Pasteur's Hovedvægten lagt paa Studiet af Alkoholgjærsvampenes Optræden; men jeg søgte overhovedet at blive fortrolig med alle de Organismer, der med Luftens Støv kunne komme i Ølurt og der udvikle sig; samtidig ønskede jeg ved selvstændige Iagttagelser at prøve de opstillede Theoriers Rigtighed.

Som Næringsvædske benyttede jeg Siposeurt (filtreret Humleurt); den er nemlig lettere at sterilisere ved Kogning end Pururt (Urt uden Humle) og i det Hele lettere at behandle end denne. I de fleste Forsøg anvendte jeg 1/4 Liters Kogeflasker med vid Munding, der hyppigst vare c. 2/3 fyldte med den omtalte Urt. Flaskerne bleve, efterat den indeholdte Urt havde kogt en Tidlang, overbundne med et Lag Filtrerpapir, der kort i Forvejen var trukket igjennem en Flamme for at bortbrænde Støvet, og herigjennem lod jeg derpaa de hede Dampe fra den bestandigt kogende Urt i længere Tid stige op, men dog saaledes naturligvis, at jeg undgik en Sprængning. Derpaa blev et nyt Lag, paa samme Maade behandlet Filtrerpapir bundet over det første og ligeledes under fortsat Kogning udsat for Dampenes Paavirkning. Urt behandlet paa denne Maade holder sig ligesaa godt som i de Pasteurske Kolber. Jeg har nu f. Ex. havt saadanne Flasker staaende i 1 Aar, og deres Indhold forblev i den Tid klart og uforandret, frit for Organismers Angreb. Dog stode de i et Lokale, hvis Luft paa Grund af de der anstillede Experimenter bestandig var opfyldt med forskjellige Bakterier, Gjær- og Skimmelsvampe, for hvilke Urten udgjør en fortrinlig Næringsbund. Saa vidt jeg erindrer, er

det Brefeld, der først har meddelt denne Methode. Jeg fik her ikke blot en kraftig Vegetation af forskjellige Skimmelsvampe men ogsaa af Saccharomycesformer og Bakterier; Kulturer anstillede paa denne Maade syntes overhovedet godt at svare til min Hensigt. Efter Pasteur's Anvisning benyttede jeg ogsaa de i det Foregaaende beskrevne, under den indesluttede Vædskes Kogning tilsmeltede Kolber; nogle rummede 300, andre kun 200 Kubikcentim. hver, og de vare omtrent halvt fyldte med Urt; de store indsugede følgelig efter Aabningen c. 150 og de smaa c. 100 Kubikcentim. Luft. Desuden anvendte jeg Aspiration efter Cohn's Methode[1]), idet jeg satte en Aspirator i Forbindelse med en større Kogeflaske eller en Pasteursk Kolbe. Naar jeg havde ledet saa megen Luft ind, som jeg ønskede, lukkede jeg Rørene, der gik gjennem Kogeflaskens Prop, med glødede Asbestpropper. Den Pasteurske Kolbe lukkede jeg som sædvanlig med den tilhørende Glasprop. Den kogte Urt henstod altid nogen Tid til Prøve, førend den blev benyttet. I alle Tilfælde blev Støvet paa Ydervæggene af de Flasker og Kolber, som jeg paa forskjellige Steder satte ud for at opfange Luftens Indhold, brændt bort med en Lampe, førend jeg aabnede dem. Kort i Forvejen tog jeg altid en renvasket Guttaperchakappe paa og førte saavel mine Hænder som den benyttede Sax og Tang igjennem en Flamme; jeg søgte kort sagt at iagttage al den ved saadanne Undersøgelser fornødne Omhu, hvorom navnlig Pasteur har givet meget anbefalelsesværdige Forskrifter. Efterat Flaskerne og Kolberne havde været udsatte en Tid for Luftens Paavirkning bleve de lukkede, de førstnævnte med Filtrerpapir, der havde været udsat for koghede Dampe og kort før det blev benyttet trukket gjennem en Flamme; sidstnævnte med Lak[2]). De bleve alle som oftest satte ind i Thermostaten ved 16—27° C., der synes at være de heldigste Temperaturer for de paagjældende Organismers Udvikling. I den varme Sommertid, hvor Fluer og andre Insekter søgte den udsatte Urt, anvendte jeg for at holde dem borte, dels Flor, hvormed Flaskerne under Kogningen bleve overbundne, og dels et Staaltraadsnet, der dækkede dem. Førstnævnte Fremgangsmaade er af flere Grunde den bedste. Aarsagen til, at jeg i de fleste Tilfælde anvendte Flaskerne var den, at de ere forholdsvis lette at behandle, og at man ved at benytte dem er mindre udsat

---

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 B., 3. H., 1875, p, 147, Taf. V, Fig. 1.

[2]) 8 Lod Harpix. $2^1/_2$ Lod Vox og c. 1 Lod tyk Terpentin. Denne fortrinlige Lak anvendes meget i Panum's Laboratorium. Schellak er ogsaa god hertil.

for Fejltagelser, end naar man f. Ex. bruger flade Skaale. Udsigten til et sikkert Resultat er ved denne Fremgangsmaade ikke ringe. Hertil kommer, at de, uagtet Urten heri ikke frembyder nogen stor Flade til Opfangelsen af Luftens Organismer, dog ligeledes i den Retning have vist sig meget brugbare: thi de gave ikke blot en yppig Vegetation men ogsaa mange forskjellige Former, hvoriblandt flere, som ikke tidligere paa den Maade ere blevne iagttagne. Aspirationen har hidtil ikke vist sig heldig; det er imidlertid muligt, at ogsaa denne Methode kan tillempes saaledes, at den fyldestgjør sin Hensigt. I Laboratoriets fortsatte Forsøg vil der, for at erholde udvidet Erfaring, ved Siden af Kogeflaskerne navnlig blive anvendt store Vakuumskolber og Bægerglas med større Munding end Flaskerne. Bemærkningerne om Temperaturen og Vejrliget i Haven ere optegnede efter den af Carlsbergs Gartner, Hr. A. N. Hansen førte Dagbog, som han godhedsfuldt tillod mig at benytte. Thermometret stod c. 2 Al. over Jorden i en Trækasse og var i Skygge. Angaaende Formernes Opfattelse henvises til Tavlerne og til Fortegnelsen over de af mig i Øl og Ølurt iagttagne Arter.

Analyser.

1ste Maj 1878. 1ste Forsøgsrække.

Af 12 Kogeflasker, 3/4 fyldte, bleve 2 satte paa en Bænk i Udkanten af Carlsbergs Have, 2 i Gammel Carlsbergs Undergjæringskjelder, 2 i Faxehus, 2 i Valbjerg, 2 i Ny Carlsbergs Over- og 2 i samme Bryggeris Undergjæringskjelder. Faxehus og Valbjerg ere Navne paa 2 Villaer, som ligge i Carlsbergs Nærhed. Flaskerne fra Haven bleve hentede tilbage efter 5 Timers, de øvrige efter 18 Timers Forløb. Derpaa bleve de efterhaanden alle indsatte i Thermostaten ved c. 19° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Maj S.O. Graat, Min. 5°, Max, 17° C.

17 Maj. De to Flasker fra Haven: I begge findes et fnugget, graaligt Bundfald, iøvrigt synes Vædsken uforandret; den er rødbrun og klar. Dog optræder der i den ene Flaske paa dens Overflade op mod Glassets Væg en hvidlig, slimet Ring. Denne er dannet af et Mycelium, hvis Hyfer ere meget tynde og mangle Fruktifikation. Bundfaldet bestaar af et stærkt udviklet, vandgraat, grenet, septeret Mycelium, ligeledes uden Fruktifikation.

27 Maj. Den ene Flaske fra Gl. Carlsbergs Undergjæringskjelder: Vædsken temmelig uklar, brun, med et ringe Bundfald. Paa dens Overflade en tyk, sejg, stærk Hinde, næsten lig en Skindlap, der foroven er hvid, uldagtig og dannet af et Fletteværk af

grenede, septerede, vandgraa Hyfer, men uden Fruktifikation; paa Bunden findes lignende, dog mindre fast sammenfiltrede. Enkelte smaa Stavbakterier og yderst faa Led af Bacillus subtilis.

Den anden Flaske fra Gl. Carlsbergs Undergjæringskjelder: Vædsken som ovenfor; paa dens Overflade en laadden, grøngraa og hvidlig, grovt foldet, tyk Hinde, der foroven bærer en rig Fruktifikation af Penicillium glaucum og ellers er bygget af et tæt Fletteværk af grenede, septerede Hyfer. Paa Bunden fnuggede Dannelser af mindre tæt sammensnoede Hyfer, hvis Led og da navnlig Endedelene temmelig hyppigt ere pære- eller kugleformigt opsvulmede, og hvis Protoplasma ofte er trukket tilbage fra Væggen som en grynet, gulgraa Masse. Pasteur's Fig. 20 i Études sur la bière, svarer i det Hele hertil.

27 Maj. Den ene Flaske fra Faxehus: Vædsken temmelig uklar, gulladen. Paa en Del af dens Overflade grovt foldede, tykke, grøngraa og hvide Klumper af meget tæt sammenvævede, grenede, septerede Hyfer, hvorfra en rig Fruktifikation af Penicillium cladosporioides hæver sig. Temmelig rigeligt, gulgraat Bundfald, bestaaende af en uhyre Vrimmel af smaa Stavbakterier, enkelte Saccharomyces Mycoderma, smaa Celler af Sacch. cerivisiæ, Bacillus subtilis og korte Kjeder af Mycoderma aceti.

Den anden Flaske fra Faxehus: Vædsken som ovenfor; paa dens Overflade en tyk, sejg, slimet, gulgraa Hinde, bygget af en kraftig Vegetation af Dematium pullulans, der paa Hindens Underside begyndte at blive sortegrøn. Bundfaldet ringe, bestaaende af de fra Hinden nedfaldne Celler. Denne Flaske havde staaet paa Loftet, førstnævnte derimod i Dagligstuen.

7 Juni. Den ene Flaske fra Valbjerg: Vædsken klar, brun, med ringe, gulgraat Bundfald; dens Overflade dækket med en tyk, gulgraa, sejg Hinde, dannet af et abnormt, stærkt udviklet Mucor-Mycelium, som i alt Væsentligt stemmer overens med Pasteur's Pl. V; det er meget rigt paa stærkt lysbrydende Korn og Kugler; ingen Fruktifikation. Bundfaldet bestaar af de fra Hinden nedfaldne Partikler.

Den anden Flaske fra Valbjerg: Vædsken som ovenfor; dens Overflade dækket af en tyk, gulgraa, sejg Hinde, hvorfra der nedadtil, lige til Flaskens Bund, strækker sig et rigt Mycelium og opadtil i Luften en yppig Fruktifikation af Mucor stolonifer. Bundfaldet bestaar ogsaa her af de fra Hinden nedfaldne Dele.

18 Maj. Den ene Flaske fra Ny Carlsbergs Overgjæringskjelder: Vædsken uklar, brunlig, med temmelig tykt, gulgraat

Bundfald. Paa dens Overflade op mod Glassets Væg en hvidlig Ring, dannet af tynde Hinder, der dels bestaa af Saccharomyces cerevisiæ (navnlig store runde Celler, vistnok Overgjærsformer), dels af smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis, samt af enkelte Kjeder af Mycoderma aceti. Nogle af Gjærcellerne have Pølseform og minde om Saccharomyces Pastorianus. I Bundfaldet de samme Former.

Den anden Flaske fra Ny Carlsbergs Overgjæringskjelder: Vædsken som hos den foregaaende. Paa dens Overflade en tynd, jævn, mat, graa Hinde, bestaaende af talrige smaa, runde Celler, vistnok tilhørende Saccharomyces Mycoderma. Under Hinden en i Vædsken svømmende, fnugget Klump af et grenet, vandgraat Mycelium med flere opsvulmede Led. Bundfaldet bestaar fortrinsvis af et lignende Indhold, men flere af Cellerne her have Oliedraaber, og der optræder enkelte store, runde Celler af Saccharomyces cerevisiæ samt Sacch. Mycoderma som Reess's Fig. 10—11, Taf. IV; yderst faa smaa Stavbakterier.

18 Maj. Den ene Flaske fra Ny Carlsbergs Undergjæringskjelder: Temmelig uklar Vædske med gulgraat Bundfald; paa dens Overflade et temmelig stort, graat, pudeformet Skimmelparti, hvorfra der atter hæver sig dels hvide, dels blaagraa Tuer. Sidstnævnte bestaa af Penicillium glaucum i Fruktifikation, det øvrige af Mucor racemosus, dels Sporangier, dels et rigt, sammenvævet, grenet, septeret Mycelium med tykke Vægge og gulgraat, grynet Protoplasma, der i Reglen ligger sammentrukket i Midten af de opsvulmede, ofte kugleformede Led. Pasteur's Pl. V. Nær Overfladen findes endvidere enkelte Celler af Saccharomyces cerevisiæ, hvoriblandt flere pølseformede. I Bundfaldet normale Celler af Sacch. cerevisiæ (Undergjær), blandede med en talrig Mængde af de ovenfor omtalte pølsedannede.

Den anden Flaske fra Ny Carlsbergs Undergjæringskjelder: Lignende Vædske som i det foregaaende Tilfælde; paa dens Overflade en lille, graa Skimmeltue af Mucor racemosus, hvis Myceliegrene hyppig have samme Beskaffenhed som de i det Foregaaende omtalte; desuden talrige Saccharomyces cerevisiæ med yderst faa, pølseformede Celler; et temmelig stort Antal smaa Stavbakterier. Hovedmassen af Bundfaldet er dannet af Sacch. cerevisiæ (Undergjær).

29de Juni. 2den Forsøgsrække.

6 Kogeflasker, $^3/_4$ fyldte, bleve henstillede under Kirsebærtræerne, under Stikkelsbærbuskene og i Lysthuset, 2 paa hvert

Sted. De bleve alle hentede tilbage efter 48 Timers Forløb og satte ind i Thermostaten ved 22—24° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 29 Juni S. Solskin. Min. 13°, Max. 31° C. — 30 Juni S. Solskin, Min. 14°, Max. 26° C. — 1 Juli V. Tildels Solskin, luftigt, Min. 14°, Max. 24° C.

10 Juli. Den ene Flaske fra Kirsebærtræerne: Et tykt Skimmellag med rig Fruktifikation dækker Overfladen af Vædsken, der er uklar, med tykt, gulgraat Bundfald. Skimmellaget bestaar fornemlig af Mucor stolonifer og desuden af Dematium pullulans, der her saavel optræder med vandgraat som med smudsigt grøntfarvet Mycelium. Bundfaldet indeholder især en uhyre Mængde smaa Stavbakterier og gjærsvampelignende Celler af Dematium pullulans.

23 Juli. Den anden Flaske fra Kirsebærtræerne: Et meget tykt, bølgeformet Skimmellag dækker hele Overfladen; det er i sin største Udstrækning hvidt og filtet, men i Randen op mod Glassets Væg sortegrønt og er dannet dels af et ubestemmeligt Mycelium og dels af Dematium pullulans. Temmelig tykt, gulgraat Bundfald, hvori der ligesom i den temmelig klare Vædske findes talrige, smaa, gjærsvampelignende Celler af Dematium pullulans med forholdsvis store Oliedraaber.

10 Juli. Den ene Flaske fra Stikkelsbærbuskene: Et tykt Skimmellag med rig Fruktifikation af Mucor stolonifer dækker Overfladen af Vædsken, der er uklar med et ringe Bundfald; dette bestaar af formløse Fnug og Smaadele.

23 Juli. Den anden Flaske fra Stikkelsbærbuskene: Et meget tykt Skimmellag, dannet af Mucor stolonifer, dækker den uklare Vædskes Overflade. Temmelig ringe, gulgraat Bundfald, bestaaende af gammelt Mycelium og formløse Smaadele.

10 Juli. Den ene Flaske fra Lysthuset: Paa den temmelig klare Vædskes Overflade et tykt Skimmellag med rig Fruktifikation af Mucor stolonifer. Ringe Bundfald, bestaaende af formløse Smaadele og af gjærsvampelignende Celler (Dematium pullulans?).

23 Juli. Den anden Flaske fra Lysthuset: Den uklare Vædskes Overflade er dels dækket af et grønligt, gulladent og hvidligt Skimmellag, dannet af Penicillium cladosporioides, og dels af slimede Masser; i Midten findes dog et aabent Parti; disse Masser bestaa af utallige smaa Stavbakterier og af Bacillus subtilis. Bundfaldet er tykt, gulgraat og bestaar foruden af de omtalte Bakterier tillige af Saccharomyces ellipsoideus, oftest i rig Knopskydning, og af pølseformede Gjærceller, der kunne minde om Saccharomyces Pastorianus, samt endelig af gamle Mycelierester.

10de Juli. 3die Forsøgsrække.

2 Kogeflasker, $^2/_3$ fyldte, bleve stillede under Kirsebærtræerne og efter 48 Timers Forløb hensatte i Laboratoriet, hvor Temperaturen var c. 18° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 10 Juli V. Mest graat, nogen Regn, Min. 9°, Max. 21° C. — 11 Juli N.V. Tildels Solskin, Min. 12°, Max. 21° C. — 12 Juli V. Mest graat, med stærke Regnbyger, Min. 10°, Max. 25° C.

24 Juli. Den ene Flaske fra Kirsebærtræerne: Paa Overfladen af den uklare Vædske dels hvidlige og blaagraa Skimmellapper, dels slimede Masser; temmelig tykt, gulgraat Bundfald. Skimmellaget er dannet af Penicillium glaucum i Fruktifikation; desuden af et rigt Mycelium, dels bestaaende af denne Art, dels af Dematium pullulans. I Vædsken og Bundfaldet findes talrige, gjærsvampelignende Celler, henhørende til sidstnævnte Art, nogle Mycelietraade og en uhyre Vrimmel af smaa Stavbakterier, hvilke ogsaa danne de slimede Masser.

5 August. Den anden Flaske fra Kirsebærtræerne: Den uklare Vædskes Overflade er dækket med en tyk, hvidfiltet Skimmellap, bestaaende af Penicillium glaucum i rig Fruktifikation; temmelig tykt, gulgraat Bundfald, bestaaende af talrige smaa Stavbakterier, nogle Exempl. af Saccharomyces ellipsoideus, der som oftest vare i Knopskydning, og enkelte af Bacillus subtilis.

24de Juli. 4de Forsøgsrække.

4 Kogeflasker, $^1/_8$ fyldte med lignende Vædske som i det foregaaende Tilfælde, dog var denne her meget stærkt indkogt, bleve henstillede under Kirsebærtræerne og i Lysthuset, 2 paa hvert Sted. Efter 72 Timers Forløb bleve de hensatte i Laboratoriet, hvis Temperatur var c. 18° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 24 Juli N.V. Solskin, Min. 11°, Max. 26° C. — 25 Juli S.V. Solskin, smukt Vejr, Min. 11°, Max. 25° C. — 26 Juli S. Solskin, smukt Vejr, Min. 10°, Max. 25° C. — 27 Juli S. Tildels Solskin, Min. 12°, Max. 27° C.

5 August. Den ene Flaske fra Kirsebærtræerne: Den uklare Vædske er dækket af hvide og blaagraa Skimmellapper, dannede af fruktificerende Penicillium glaucum, samt af en rødlig Slimmasse, der bestaar af en rød Gjærsvamp med Askosporer.

Den anden Flaske fra Kirsebærtræerne: Hovedsagelig som forangaaende.

14 August. Den ene Flaske fra Lysthuset: Overfladen tildels dækket med Penicillium glaucum i Fruktifikation; i det temmelig

ringe Bundfald talrige smaa Celler af Dematium pullulans? og af Saccharomyces ellipsoideus.

Den anden Flaske fra Lysthuset: Den uklare Vædskes Overflade næsten aldeles dækket med Eurotium Aspergillus glaucus og Penicillium glaucum, begge i rig Fruktifikation; af førstnævnte fandtes saavel en yppig Konidiedannelse som og talrige Sporokarpier med Askosporer. I Vædsken optraadte en Mængde gjærsvampelignende Celler, som nærmest minde om Pasteur's Torula, Pl. III. Det temmelig tykke Bundfald indeholdt de samme Former.

17de August. 5te Forsøgsrække.

3 Kogeflasker, $^{2}/_{3}$ fyldte, bleve satte i Haven, nemlig 1 under Stikkelsbærbuskene, hvis Bær vare modne, og 2 under Vinrankerne, der havde umodne Druer. De bleve staaende paa de nævnte Steder i 60 Timer. Efterat være hentede, bleve de indsatte i Thermostaten ved c. 21° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 17 Aug. S. V. Stærke Regnbyger, Min. 14°, Max. 23° C. — 18 Aug. S. Smukt Vejr, Min. 8°, Max. 24° C. — 19 Aug. N. V. Solskin, med smukt Vejr, Min. 14°, Max. 23° C. – 20 Aug. N. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 10°, Max. 22° C.

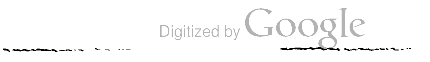
28 August. Flasken fra Stikkelsbærbuskene: Tynd, graa Hinde paa den uklare Vædskes Overflade. Tykt Bundfald. Hinden bestaar af Saccharomyces Mycoderma og af talrige smaa Stavbakterier. I Bundfaldet findes foruden de nævnte Organismer tillige Saccharomyces cerevisiæ og Sacch. apiculatus; sidstnævntes Udseende stemmede aldeles overens med de af Pasteur, pag. 70, Fig. 11 b afbildede Former.

22 August. Den ene Flaske fra Vinrankerne: Den uklare Vædskes Overflade er dækket med en gulladen, blæret Zoogløamasse, indeholdende talrige smaa Stavbakterier, faa Exempl. af Bacillus subtilis og af Saccharomyces ellipsoideus. I det temmelig ringe Bundfald findes de samme Organismer.

27 August. Den anden Flaske fra Vinrankerne: Ligesom foregaaende, kun fandtes her ogaa paa Vædskens Overflade Skimmel, bestaaende af Dematium pullulans og Mucor Mucedo.

31te August. 6te Forsøgsrække.

En Pasteursk Kolbe, næsten fyldt med kogt og derved steriliseret Siposeurt, blev i det fysiologiske Laboratorium sat i For-



bindelse med en Aspirator og Luft indsuget saaledes, at den kom til at stryge henover Vædsken. Efter c. ½ Times Forløb blev den sat ind i Thermostaten ved c. 24° C.

28 Septbr. Vædsken klar, brun; paa dens Overflade op mod Kolbens Væg graa Skimmel, bestaaende af et tæt, sammenfiltret, septeret Mycelium (vistnok tilhørende Penicillium glaucum), med ofte uregelmæssigt opsvulmede Led, men uden Fruktifikation. Forøvrigt ingen Organismer.

2den Septbr. 7de Forsøgsrække.

3 Kogeflasker, ⅔ fyldte, bleve satte i Haven, 1 under Vinrankerne og 2 under Blommetræerne. De bleve hentede tilbage efter 48 Timers Forløb og alle henstillede i Laboratoriet, hvis Temperatur om Dagen var 16—18 og om Natten c. 12° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 2 Septbr. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 13°, Max. 25° C. — 3 Septbr. V. Mest graat, Min. 13°, Max. 21° C. — 4 Septbr. N.V. Mest Solskin og smukt Vejr, Min. 15°, Max. 24° C.

12 Septbr. Flasken fra Vinrankerne: Den uklare Vædskes Overflade er tildels dækket med et hvidt og grøngraat Skimmellag; temmelig tykt Bundfald. Skimmellaget bestaar af et sortegrønt Mycelium (maaske tildels dannet af Dematium pullulans) og af Botrytis cinerea i Fruktifikation. I Bundfaldet findes foruden nedfaldne Dele af Skimmellaget tillige en uhyre Mængde smaa Stavbakterier og nogle faa Exempl. af Saccharomyces ellipsoideus samt korte Led af Bacillus subtilis.

11 Septbr. Den ene Flaske fra Blommetræerne: Den uklare Vædskes Rand dækket med et hvidt og grøngraat Skimmellag; temmelig tykt Bundfald. Skimmellaget bestaar af Dematium pullulans, Cladosporium herbarum, Botrytis cinerea, og Penicillium glaucum, alle i Fruktifikation. I Vædsken og Bundfaldet findes dels nedfaldne Dele heraf, dels Saccharomyces ellipsoideus og dels navnlig en Mængde smaa Stavbakterier, ofte som typiske Zoogløamasser, der ere vandgraa, langstrakt cylindriske med kugleformede Fremragninger, rette eller bugtede; undertiden ligne de ogsaa Drueklaser.

Den anden Flaske fra Blommetræerne: Som foregaaende, kun optraadte her ingen Zoogløa, og i Vædskens øverste Lag fandtes ret talrige Exempl. af Bacillus subtilis.

10de Septbr. 8de Forsøgsrække.

3 Kogeflasker, $^2/_3$ fyldte, bleve hensatte paa Valbjerg, nemlig 1 i en Stue i Kjelderlejligheden og 2 paa Altanen. Efter 48 Timers Forløb bleve alle Flaskerne hentede og anbragte i Thermostaten ved c. 26° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 10 Septbr. N. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 12°, Max. 24° C. — 11 Septbr. N. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 9°, Max. 22° C. — 12 Septbr. S. V. Tildels graat, Min. 9°, Max. 24° C.

19 Septbr. Flasken fra Kjelderlejligheden: Vædsken aldeles uklar, med en tyk, slimet, sejg Hinde, bestaaende af en uhyre Mængde, i Slim indlejrede, smaa Stavbakterier og enkelte meget lange Traade af Bacillus subtilis. I Bundfaldet foruden de samme Organismer tillige Mucor-Mycelium med kugleformet opsvulmede Led.

30 Septbr. Den ene Flaske fra Altanen: Klar, brun Vædske dækket af et meget tykt, hvidt og graat Skimmellag; temmelig ringe Bundfald. Dette bestaar af smaa Celler, der vistnok i nogle Tilfælde tilhøre Saccharomyces apiculatus og i andre Dematium pullulans; desuden af enkelte nedfaldne Dele af Skimmellaget; heri findes Botrytis cinerea, Penicillium glaucum og Cladosporium herbarum, alle i Fruktifikation.

Den anden Flaske fra Altanen: Vædsken klar og brun, med meget tykt, hvidt, graat og blaagraat plettet Skimmellag; temmelig ringe Bundfald. Dette bestaar væsentligst af Saccharomycesformer, som de af Pasteur Pl. III tilvenstre afbildede, desuden af enkelte nedfaldne Partikler fra Skimmellaget. I dette optræde de samme Organismer som i det foregaaende Tilfælde; Botrytis cinerea har her dog ikke blot udviklet Konidier, men tillige Sklerotier.

10de Septbr. 9de Forsøgsrække.

En tilsmeltet 300 Kubikcentim. Kolbe blev aabnet under Vinrankerne, hvis Druer vare stærkt i Færd med at modnes, og efterat Luftindstrømningen var standset, lukket med Lak og derefter hensat i Laboratoriet, hvis Temperatur om Dagen var 15—18, om Natten 9—12° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 10 Septbr. N. V. Solskin og smukt Vejr, Min. 12°, Max. 24° C.

1 Oktbr. Vædsken klar brun, tilsyneladende aldeles uforandret. Ved den mikroskopiske Undersøgelse fandtes dog nogle smaa Stavbakterier, men de havde et gulladent Udseende, med temmelig

stærk Lysbrydning, og gjorde nærmest Indtryk af at være døde. De have saaledes vistnok oprindeligt været til Stede i den kogte Urt i Kolben, førend denne blev aabnet.

13de Septbr. 10de Forsøgsrække.

Igjennem Urten i en større Kogeflaske, $^1/_4$ fyldt, blev der under Vinrankerne suget 8 Liter Luft ved Hjælp af en Aspirator. Vejrlig og Temperatur i Haven: 13 Septbr. S.V. Mest Solskin, Min. 10°, Max. 21° C. Flasken blev efter $^1/_2$ Times Forløb indsat i Thermostaten ved c. 16° C.

1 Oktbr. Vædsken temmelig klar, brun, med to filtede, hvide og graaplettede Skimmeltuer paa Overfladen, dannede af Penicillium glaucum. I Vædsken og Bundfaldet dels nedfaldne Smaadele heraf, dels smaa Gjærceller (Saccharomyces ellipsoideus?).

19 Septbr. 11te Forsøgsrække.

3 Kogeflasker, $^2/_3$ fyldte, anbragtes i Haven, nemlig 1 under Blommetræerne, der havde modne Frugter, og 2 under Vinrankerne, hvis Druer næsten vare modne. Efter 48 Timers Forløb bleve de indsatte i Thermostaten ved c. 26° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 19 Septbr. S.V. Tildels graat, Min. 10°, Max. 16° C. — 20 Septbr. S.V. Solskin, smukt Vejr, Min. 9°, Max. 16° C. — 21 Septbr V. Solskin, smukt Vejr, Min. 5°, Max. 16° C.

25 Septbr. Flasken fra Blommetræerne: Uklar, gulladen Vædske, lysere end oprindelig; dens Overflade er dækket med en temmelig tyk Hinde, der i sin største Strækning er hvidmelet, grovt foldet og kun i et mindre Parti gulladent og fint foldet; temmelig tykt Bundfald. Den større hvide melagtige Strækning bestaar af Oidium lactis. det fint foldede, mindre Parti af Saccharomyces Mycoderma. I Bundfaldet findes en uhyre Mængde smaa Stavbakterier, ret talrige Saccharomyces-Celler, navnlig Former, der nærmest minde om Sacch. cerevisiæ, Sacch. exiguus og Sacch. Pastorianus, desuden Sacch. apiculatus og enkelte Bacillustraade, der afsnøre korte Led. Efter nogle faa Dages Kultur paa en Gibsblok optraadte der i alle de nævnte Gjærceller, med Undtagelse af Sacch. apiculatus, smukke Askosporedannelser. Grunden til, at Infektionen her var saa særdeles rig, turde maaske for en Del søges deri, at Blommerne netop bleve plukkede paa den Tid, da Flasken stod der; herved bleve Træerne altsaa rystede og Udsigten til en Regn af Organismer

større, ikke blot fra Grenene, Bladene og Frugterne, men tillige fra Folkenes Klæder.

Den ene Flaske fra Vinrankerne: En foldet, gulgraa Hinde paa den temmelig uklare Vædskes Overflade; tykt Bundfald. Hinden er væsentlig dannet af Saccharomyces Mycoderma, desuden findes her talrige smaa Stavbakterier. Disse optræde ogsaa i Mængde i Bundfaldet, der tillige er dannet af nedfaldne Dele af Hinden og af temmelig talrige Exempl. af Saccharomyces apiculatus.

1 Oktbr. Den anden Flaske fra Vinrankerne: Uklar, brunlig Vædske, ingen Hinde, tykt Bundfald. Dette bestaar fortrinsvis af Saccharomyces apiculatus; desuden af enkelte Exempl. af Sacch. ellipsoideus, nogle smaa Stavbakterier, Mycoderma aceti og Bacillus subtilis.

5te Oktbr. 12te Forsøgsrække.

5 Kogeflasker, 2/3 fyldte, anbragtes i Haven, nemlig 1 under Kirsebærtræerne, 1 i Kjøkkenet i Valbjerg, 1 paa Altanen sammesteds, 1 under Vinrankerne, hvis Druer vare modne, og 1 i Undergjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg. Samtidigt bleve 2 tilsmeltede Kolber, 1 paa 300 og 1 paa 200 Kubikcentim., aabnede i de syrligt lugtende Dampe, som stege op fra Masken, medens den blev skovlet fra den ene Vogn til den anden. Efterat de havde suget sig fulde af Luft, bleve de lukkede med Lak og hensattes derpaa i Thermostaten ved c. 27° C. Kogeflaskerne bleve hentede efter 72 Timers Forløb og derpaa ligeledes anbragte i Thermostaten ved den nævnte Varmegrad. Vejrlig og Temperatur i Haven: 5 Oktbr. V. Tildels Solskin, smukt Vejr, Min. 6°, Max. 10° C. — 6 Oktbr. S. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 5°, Max. 18° C. — 7 Oktbr. S. O. Solskin, smukt Vejr, lidt Blæst Min. 10°, Max. 16° C. — 8 Oktbr. S. Solskin, smukt Vejr, Min. 11°, Max. 21° C.

18 Oktbr. Flasken fra Kirsebærtræerne: Brun, temmelig klar Vædske, tykt Bundfald. Paa Overfladen et Par smaa, hvidlige og graa Skimmeløer og ellers tynde, næsten rosenrøde Hindepartikler. Disse bestaa af røde, gjærsvampelignende Celler (Tavle II, Fig. 38-41). Skimmeløerne ere dannede af Dematium pullulans. I Bundfaldet findes en stor Klump af et ubestemmeligt Mycelium; desuden talrige nedfaldne Celler fra Hindepartiklerne og Skimmeløerne.

22 Oktbr. Flasken fra Kjøkkenet: Vædsken aldeles uklar, temmelig lys, gulladen; dens Overflade dels dækket af en tynd, hvidlig, mat Hinde, dels af en grøngraa Skimmeltue; tykt Bund-

fald. Hinden er dannet af smaa Stavbakterier og Sacch. Mycoderma; indblandet findes maaske tillige Sacch. ellipsoideus. Skimmeltuen bestaar af Penicillium glaucum. I Bundfaldet findes de nævnte Organismer; Sacch. Mycoderma optræder her med langstrakte Celler og med karakteristiske, træformede Forgreninger.

Flasken fra Altanen: Vædsken uklar, brunladen, dækket af et tykt, graat Skimmellag, bestaaende af Mucor stolonifer i Fruktifikation. Temmelig ringe Bundfald, hvori nedfaldne Dele fra Skimmellaget og nogle Sacch. apiculatus.

Flasken fra Undergjæringskjælderen: Uklar Vædske, paa hvis Overflade der dels findes enkelte graa, matte Pletter, dels op mod Glassets Væg en hvidlig Ring og en lille hvid, filtet Skimmeltue; tykt Bundfald. De graa Pletter bestaa af Sacch. Mycoderma, den hvidlige Ring af Sacch. cerevisiæ; Skimmeltuen af et ubestemmeligt Mycelium. Imellem disse Organismer findes nogle smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis. I Bundfaldet optræde de samme Former med Undtagelse af Myceliet; iblandt Saccharomyces-Cellerne findes her flere uregelmæssige, hvoraf nogle kunne minde om Sacch. Pastorianus.

Flasken fra Vinrankerne: Brunlig, lidt uklar Vædske, ingen Hinde; op mod Glassets Væg en lille Skimmellap; tykt Bundfald; kun Dematium pullulans.

26 Oktbr. 300 Kubikcentim. Kolben: Vædsken uklar, gulladen, med tyk, graa, lysplettet, svagt foldet, sejg Hinde; ringe Bundfald. Hinden bestaar af smaa Stavbakterier og længere Traade, hvoraf hine synes at have udviklet sig; de ere ordnede i store Masker, og der opstaar herved utallige Netværk; i Vand synes Hinden at holde sig uforandret. I Bundfaldet nedfaldne Partikler deraf. Stærkt sur Reaktion paa Lakmospapir.

200 Kubikcentim. Kolben: Vædsken aldeles klar, brun, uforandret. De to sidstnævnte Undersøgelser bleve anstillede efter Hr. Brygger Kogsbølles Opfordring og skulle fortsættes.

1ste Novbr. 13de Forsøgsrække.

7 Kogeflasker, $^2/_3$ fyldte, bleve anbragte i Haven, 1 under Kirsebærtræerne, 2 under Vinrankerne, hvis fleste Druer vare afplukkede, 2 i Undergjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg, 1 i Kjøkkenet paa Valbjerg og 1 paa Altanen sammesteds. Efter 72 Timers Henstand bleve de indsatte i Thermostaten ved c. 25° C.

Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Novbr. N. Solskin, smukt Vejr, Min, 3°, Max. 11° C. — 2 Novbr. S. Bygevejr med Hagl, Min. 1°, Max. 11° C. — 3 Novbr. N. V. Solskin, smukt Vejr, Min. 0,5°, Max. 11° C. — 4 Novbr. N. Solskin, smukt Vejr, Min. 1°, Max. 7° C.

14 Novbr. Den ene Flaske fra Undergjæringskjælderen: Uklar, gulladen Vædske med tykt Bundfald og hvidgul Hinde; denne bestaar fornemlig af magert spirende Sporer af en Mucor med »Gemmen« (Reess, Fig. 5, Taf. IV); desuden findes nogle Gjærceller, som nærmest minde om Sacch. ellipsoideus, og smaa Stavbakterier. Bundfaldet indeholder især Sacch. cerevisiæ; foruden denne er der talrige smaa Stavbakterier og nogle af de omtalte spirende Mucorsporer til Stede.

Den anden Flaske fra Undergjæringskjælderen: Uklar, gulladen Vædske, med tykt Bundfald og hvidgraa, filtet Hinde, i hvis Rand der findes et Par grøngraa Skorper. Disse bestaa af et brungrønt, septeret, tykvægget men ubestemmeligt Mycelium; det filtede Lag er dannet af Mucor Mucedo. I Vædskens Overflade findes Sacch. Mycoderma, Sacch. ellipsoideus, smaa Stavbakterier og Sacch. cerevisiæ. Bundfaldet er dannet af de samme Organismer, dog fortrinsvis af Sacch. cerevisiæ.

16 Novbr. Den ene Flaske fra Vinrankerne: Et tykt, laaddent Skimmellag, bestaaende af Mucor stolonifer i Fruktifikation, dækker hele Overfladen af den noget uklare, brunladne Vædske. I det temmelig ringe Bundfald findes, foruden enkelte nedfaldne Partikler fra Skimmellaget, Sacch. apiculatus.

Den anden Flaske fra Vinrankerne: En tyk, laadden Skimmeltue, bestaaende af Mucor stolonifer i Fruktifikation, har sat sig fast paa Glassets Væg og strækker sig derfra henover en lille Del af den uklare, brunladne Vædskes Overflade. Det temmelig tykke Bundfald bestaar ligesom i det foregaaende Tilfælde dels af nedfaldne Dele fra Skimmelvegetationen, dels navnlig af Sacch. apiculatus. Denne Gjærsvamp optraadte i alle Størrelser, og flere Exemplarer vare i den Grad reducerede, at de for en flygtig Betragtning godt kunde opfattes som Stavbakterier.

Flasken fra Altanen: Den uklare Vædskes Overflade er tildels dækket med en laadden, hvid- og graaladen Skimmelring, bestaaende af et tæt sammenvævet Fletteværk af graa, septerede, grenede Mycelietraade. I det temmelig tykke Bundfald findes en Vrimmel af smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis.

Flasken fra Kirsebærtræerne: Overfladen af den stærkt affarvede, gulladne Vædske er dækket med slimede Masser og hvidlige og blaagraa Skimmeltuer; disse bestaa navnlig af Penicillium glaucum, desuden af Dematium pullulans; hine ere dannede af smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis, af sidstnævnte fandtes mange, meget lange, tynde Traade. I Bundfaldet vare de samme Organismer til Stede, dog navnlig Stavbakterier og Bacillerne.

Flasken fra Kjøkkenet: Paa den uklare, brunladne Vædskes Overflade et Par hvidlige og blaagraa Skimmeltuer, dannede af Penicillium glaucum i Fruktifikation. Det temmelig tykke Bundfald bestaar næsten udelukkende af Sacch. apiculatus.

7de Novbr. 14de Forsøgsrække.

4 Kogeflasker, $^2/_3$ fyldte, bleve stillede ud, 1 under Kirsebærtræerne, 1 under Vinrankerne, der endnu havde bevaret nogle Drueklaser og meget af deres Løv, og 2 paa Altanen. Efter 72 Timers Forløb bleve de hentede tilbage; det var da Frostvejr, og der fandtes Is paa Ydervæggene af et Par; de bleve indsatte i Thermostaten ved 25° C. Vejrlig og Temperatur i Haven: 7 Novbr. S. V., senere N. Graat og lidt Regn, Min. 0°, Max. 5° C. — 8 Novbr. N. Graat, lidt Regn, Min. ÷ 1°, Max. 8° C. — 9 Novbr. N. Solskin, smukt Vejr, Min. 2°, Max. 9° C. — 10 Novbr. S.V. Graat, om Aftenen Regn, Min. ÷ 1°, Max. 8° C.

27 Novbr. Den ene Flaske fra Altanen: Uklar, brun Vædske, med sur Reaktion paa Lakmospapir; dens Midte er dækket af en tynd, rosenrød Hinde, hvori en lille graabrun Skimmeltue findes indlejret. Langs med Vædskeoverfladens Rand, op mod Glasset, har der dannet sig en slimet, rød, gulladen Ring, og ovenover denne, paa selve Glasset, en grøngraa Skimmelvegetation. Temmelig tykt, gulgraat Bundfald. Den røde Hinde bestaar af zoogløaagtige Masser, dannede af Bacillus ruber. Den slimede Ring er dels dannet af den nævnte Art og dels af et grenet, septeret, vandgraat og smudsigt grønladent Mycelium, hvis Celler ikke sjeldent vare kugleformede eller uregelmæssigt opsvulmede; det hører maaske til samme Art som den tilstedeværende Skimmelvegetation, nemlig til Cladosporium herbarum. I Bundfaldet fandtes de samme Organismer.

Den anden Flaske fra Altanen: Aldeles uklar, gulladen Vædske med et tykt, blaagraat Skimmellag og et temmelig tykt Bundfald; hint bestaar fortrinsvis af Penicillium glaucum og desuden af Dema-

tium pullulans; i dette findes dels nedfaldne Dele af Skimmellaget og dels en uhyre Vrimmel af smaa Stavbakterier samt enkelte Exempl. af Bacillus subtilis.

Flasken fra Vinrankerne: Mørkebrun, temmelig uklar Vædske, med smaa hvid- og gulladne Skimmeltuer; tykt Bundfald. Skimmeltuerne bestaa dels af Penicillium glaucum, dels af Dematium pullulans, hvis Myceliums Celler ere i Færd med at erholde tykke, gulladne Vægge. I Vædsken og i Bundfaldet findes nedfaldne Dele heraf, dog fortrinsvis en Vrimmel af Sacch. apiculatus, især langstrakte Former (Reess, Fig. 12, Taf. III); gjærsvampelignende Dematiumsceller ere dog ligeledes hyppige.

Flasken fra Kirsebærtræerne: Temmelig klar Vædske, hvis Overflade for Størstedelen er dækket med et blaagraat, hvidligt og brungrønt Skimmellag; tykt Bundfald. Skimmellaget er dannet af Penicillium glaucum og Dematium pullulans, Bundfaldet fornemlig af en uhyre Vrimmel af smaa Stavbakterier, nogle Exempl. af Bacillus subtilis og nedfaldne Smaadele fra Skimmellaget.

7de Decbr. 15de Forsøgsrække.

6 Kogeflasker, $^{2}/_{3}$ fyldte, bleve satte dels paa Altanen, dels under Vinrankerne, dels under Kirsebærtræerne, dels under Stikkelsbærbuskene og dels i Gl. Carlsbergs Undergjæringskjælder; paa det sidstnævnte Sted 2, paa hver af de førstnævnte 1. Efter 72 Timers Henstand bleve de satte ind i Thermostaten ved 25° C. Der var da Is i dem alle, undtagen i Flaskerne fra Vinrankerne og Gjæringskjælderen. Vejrlig og Temperatur i Haven: 7 Decbr. S. V. Mest graat, en Del Sne om Form., Min. ÷ 1°, Max. 2° C. — 8 Decbr. N. Solskin, smukt Vejr, Min. ÷ 7°, Max. 2° C. — 9 Decbr. S. O. & N. O. Graat med Sne, Min. ÷ 2°, Max. 2° C. — 10 Decbr. N. O. Graat, Min. 0°, Max. 2° C.

30 Decbr. Flasken fra Altanen: Brunladen, temmelig klar Vædske, dækket af et tykt, graaligt, laaddent Skimmellag, som op mod Glassets Væg har en næsten ren kromgul Farve; temmelig ringe Bundfald. I Skimmellaget findes Mucor stolonifer og Penicillium glaucum med yppig Fruktifikation; de kromgule Partier ere dannede af et gult, grenet, septeret Mycelium, vel nærmest tilhørende sidstnævnte Art. (Jeg har tidligere ved direkte Udsæd af Penicilliumsporer i Urt set, at det deraf udviklede Mycelium kan blive gult). Bundfaldet bestaar af nedfaldne Dele af Skimmellaget.

Flasken fra Vinrankerne: Brunlig, temmelig klar Vædske, dækket af et tykt, laaddent, graaladent og sortplettet Skimmellag, dannet af Mucor stolonifer i rig Fruktifikation; ringe Bundfald, bestaaende af nedfaldne Dele fra Skimmellaget.

Flasken fra Kirsebærtræerne: Brunladen, nogenlunde klar Vædske, dækket af et gulgraat, temmelig tykt Skimmellag, der er dannet af Penicillium cladosporioides; temmelig ringe Bundfald. I dette findes dels nedfaldne Dele fra Skimmellaget, dels nogle smaa Stavbakterier.

31 Decbr. Flasken fra Stikkelsbærbuskene: Brunladen temmelig klar Vædske, hvis Overflade tildels er dækket af et temmelig tykt, bølgeformet, laaddent, hvidligt og blaagraat Skimmellag, bestaaende af Penicillium glaucum; temmelig tykt Bundfald, dannet af nedfaldne Dele fra Skimmellaget.

Den ene Flaske fra Undergjæringskjælderen: Temmelig uklar, gulladen Vædske, paa hvis Overflade der findes tynde Hindepartikler, dannede af talrige smaa Stavbakterier og enkelte korte Led af Bacillus subtilis. Indblandede heri findes nogle smaa Gjærceller. Tykt Bundfald, for Størstedelen bestaaende af Saccharomyces cerevisiæ; desuden findes nogle smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis.

Den anden Flaske fra Undergjæringskjælderen: Temmelig uklar, gulladen Vædske, dækket af et tykt, graablaat, laaddent Skimmellag, der er dannet af Penicillium glaucum; tykt Bundfald, hvori der saavel findes nedfaldne Dele fra Skimmellaget som navnlig talrige smaa Stavbakterier og en Mængde Gjærceller, hvilke sidste fornemlig stemme overens med typiske Former af Saccharomyces cerevisiæ; indblandede mellem disse findes dog nogle, som minde meget om Pasteur's Afbildninger af Saccharomyces Pastorianus.

Resultater.

Ved at betragte de forangaaende Analyser vil man se, at hver Rækkes Led ere mere eller mindre forskjellige. Undersøge vi f. Ex. Forsøgene fra Haven, saa finde vi, at de samtidig udsatte Kogeflasker, endog paa temmelig nærliggende Punkter, fostre en forskjellig Vegetation. Kimene i Luften den 29 Juni—1 Juli vare saaledes ikke af samme Art under Kirsebærtræerne som under Stikkelsbærbuskene og i det aabne Lysthus. Lignende Resultater give de øvrige Forsøgsrækker. Ja, det har vist sig, at to ved Siden af hinanden staaende Flasker kunne til samme Tid modtage en forskjelligartet Infektion. Vi erfare kort sagt, at de i Luften

paa forskjellige Punkter til samme Tid svævende Mikroorganismer oftest ere af forskjellig Art, selv om de iagttagne Punkter ligge nær ved hverandre. At der ogsaa i Henseende til Mængdeforholdet kan være Differenser til Stede, vise Experimenterne med de tilsmeltede Kolber. Mine Undersøgelser have altsaa bragt samme Resultat som Pasteur's og Tyndall's.

Det er en temmelig udbredt Mening, at Gjærsvampene findes overalt jævnt udbredte i Luftens Støv og i Mængde. At Sagen ikke forholder sig saaledes, godtgjøre de meddelte Analyser, og de bekræfte ligeledes Rigtigheden af den Anskuelse, som Pasteur har fremsat, nemlig at disse Organismer her endog ere forholdsvis temmelig sjeldne. Af de 2 Kogeflasker fra Udkanten af Carlsbergs Have opfangedes f. Ex. ingen Saccharomycesformer; iblandt 4 fra Stikkelsbærbuskene indeholdtes de kun i 1, iblandt 10 fra Kirsebærtræerne kun i 4, iblandt 10 fra Vinrankerne kun i 8 og iblandt 7 fra Altanen kun i 3. I en med Siposeurt næsten fyldt Pasteursk Kolbe, over hvis Vædskes Overflade jeg i c. 1/2 Time lod stryge Luft, som jeg ved Hjælp af en Aspirator indsugede fra det fysiologiske Laboratorium, optraadte der ingen Gjærsvampe, og det Samme gjaldt om de tilsmeltede Kolber, der bleve aabnede under Vinrankerne og over Masken. Hvad her er sagt om Saccharomycesformernes Optræden har ogsaa i Almindelighed sin Gyldighed for Bakteriernes Vedkommende. I de 2 Kogeflasker, som stode i Udkanten af Haven, indeholdtes f. Ex. ingen Bakterier; dette var ogsaa Tilfældet med den ene af de 2 tilsmeltede Kolber, der bleve aabnede over Masken, og vistnok ogsaa med den, som jeg aabnede under Vinrankerne, og ligeledes med den omtalte Pasteurske Kolbe fra det fysiologiske Laboratorium, samt desuden med en større Kogeflaske, igjennem hvis Vædske jeg under Vinrankerne, ved Hjælp af Aspiratoren, lod strømme 8 Liter Luft. I 4 Kogeflasker fra Stikkelsbærbuskene fandtes der kun Bakterier i 1; i 7 fra Altanen kun i 3, i 10 fra Kirsebærtræerne kun i 6 og i 10 fra Vinrankerne kun i 5.

Naar nogle Forskere mene, at sædvanlig Luft er aldeles fri for levende Bakterier, da er dette heller ikke aldeles rigtigt; Luften paa et enkelt Punkt kan være fri, men er det ikke bestandig. Ved at tage en større Række Prøver deraf, vil man altid faa nogle, som indeholde levende Bakterier. Disse ere imidlertid ligesom Saccharomycesformerne langtfra saa hyppigt til Stede i Luftens Støv som Skimmelsvampene.

Den Omstændighed, at Prøverne fra Haven indeholdt Organismer, som ikke optraadte i Laboratoriet eller i Gjæringskjælderne,

er dels et Bevis for Rigtigheden af Pasteur's Theori og dels et Tegn paa, at i det Mindste nogle af mine Forsøg vare udførte saaledes, at de berettige til at uddrage Slutninger deraf. Saadanne Undersøgelser ere altid, selv om de udføres med en Pasteur's Dygtighed, underkastede Tilfældigheder af forskjellig Art; det ligger derfor ogsaa i Sagens Natur, at der udkræves et stort Antal, og at der stilles store Krav til Omhu og Omsigt hos den Experimenterende. Skjøndt de af mig anstillede Undersøgelser høre til de større, sammenhængende Forsøgsrækker, der hidtil ere givne paa dette Omraade, mener jeg dog ikke, at de yde fuld Berettigelse til at fastslaa almindelige Sætninger. Det er ogsaa min Plan at fortsætte dette Arbejde. De her meddelte Resultater ere derfor kun at betragte som en foreløbig Opgjørelse; efterhaanden som Iagttagelsernes Indhold bliver fyldigere, vil ogsaa Opgjørelsen i Et og Andet kunne blive forandret. Jeg forholder mig som Vandringsmanden paa en lang og vanskelig Rejse; undertiden standser han for at se tilbage, hvor vidt han er kommen, og han kaster ogsaa Blikket ud til Siderne for med større Sikkerhed at finde Vejen fremad, netop fordi han ved, at Maalet endnu langtfra er naat.

Under Forsøgene stillede Hr. Kaptajn Jacobsen følgende Spørgsmaal til mig: Er der til Luften under de forskjellige Frugttræer og Buske i Haven knyttet særegne, bestemte Organismer? — Findes der levende Gjærsvampe og andre Mikroorganismer i Luften, efterat Frosten har begyndt?

Med Hensyn til det første Spørgsmaals Besvarelse har jeg udarbejdet efterfølgende Oversigt over de Former, som fandtes paa de Steder, der i længere Tid bleve undersøgte.

I Udkanten af Carlsbergs Have: Ubestemmeligt Mycelium.

Under Kirsebærtræerne: Penicil. glaucum, Penicil. cladosporioides, Mucor stolonifer, Demat. pullulans, Sacch. ellipsoideus, rødfarvede Gjærsvampe, Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Under Stikkelsbærbuskene: Penicil. glaucum, Mucor stolonifer, Sacch. cerevisiæ, Sacch. apiculatus, Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakterier.

I Lysthuset: Eurot. Aspergillus glaucus, Penicil. glaucum, Penicil. cladosporioides, Mucor stolonifer, Demat. pullulans? Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus? Sacch. Mycoderma? Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Under Vinrankerne: Penicil. glaucum, Mucor Mucedo, Mucor stolonifer, Botryt. cinerea, Demat. pullulans, Sacch. ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, Myc. aceti, smaa Stavbakterier.

Under Blommetræerne: Penicil. glaucum, Botryt. cinerea, Cladosp. herbarum, Demat. pullulans, Oidium lactis, Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus? Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Altanen paa Valbjerg: Penicil. glaucum, Mucor stolonifer, Botryt. cinerea, Cladosp. herbarum, Demat. pullulans, Sacch. apiculatus, Sacch. Mycoderma? Bacil. ruber, Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Beboet Lejlighed paa Valbjerg: Penicil. glaucum, Mycelium af Mucor racemosus? Mucor stolonifer, Sacch. ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Faxehus: Penicil. cladosporioides, Demat. pullulans, Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, Myc. aceti, smaa Stavbakterier.

Gl. Carlsbergs Undergjæringskjælder: Penicil. glaucum, Mucor Mucedo, Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, smaa Stavbakterier.

Ny Carlsbergs Undergjæringskjælder: Penicil. glaucum, Mucor racemosus, Sacch. cerevisiæ, smaa Stavbakterier.

Ny Carlsbergs Overgjæringskjælder: Ubestemmeligt Mycelium, Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma, Bacil. subtilis, Myc. aceti, smaa Stavbakterier.

Det Hele viser nærmest hen til, at de samme Organismer kunne optræde paa forskjellige Steder, og at der f. Ex. ikke til en bestemt Art Frugttræer hører en særegen Flora. De rødfarvede Gjærsvampe fandtes vel kun i Luften under Kirsebærtræerne, Eurot. Aspergillus glaucus kun i Lysthuset og Bacil. ruber kun omkring Altanen, men dette maa vistnok betragtes som en Tilfældighed. Skal Spørgsmaalet bestemt afgjøres, saa maa de paagjældende Træer og Buske afspærres hver for sig i længere Tid.

Den 14de og 15de Forsøgsrække anstillede jeg med særligt Hensyn til det andet af de ovenfor nævnte Spørgsmaal. I den første af disse Rækker stod der Kogeflasker under Kirsebærtræerne, under Vinrankerne og paa Altanen fra den 7—10 Novbr. Vinteren havde godt begyndt, og da jeg tog dem ind, var det Frostvejr, og der fandtes Is paa Ydervæggene af et Par. I den Tid, de stode ude, var Temperaturen Min. ÷ 1° Max. 9° C. Af Gjærsvampe optraadte der ingen andre end Sacch. apiculatus, og den fandtes kun i Flasken, som var anbragt under Vinrankerne. I den 15de

Forsøgsrække stode de anvendte Kogeflasker fra 7—10 Decbr. ikke blot paa de ovennævnte Steder, men tillige under Stikkelsbærbuskene. Vinteren var da noget strengere, Min. ÷ 7° Max. 2° C., og der laa Is i nogle af Flaskerne. Der fandtes intet Spor af Gjærsvampe; den lille Sacch. apiculatus var nemlig nu ogsaa forsvunden, men de smaa Stavbakterier og tre Skimmelsvampe, Penicil. glaucum, Mucor stolonifer og Penicil. cladosporioides, huserede som sædvanligt og syntes slet ikke at være paavirkede af Frosten.

Sacch. apiculatus var altsaa den Gjærsvamp, der holdt længst ud i det Frie; den viste sig første Gang i August Maaned og hørte fra den Stund af ligesom Sacch. ellipsoideus og Sacch. Mycoderma til de hyppigste Gjærsvampe; i Gjæringskjælderne fandtes den dog aldrig, her var Sach. cerevisiæ den almindeligste. Af Bakterier fandt jeg oftest de smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis. De mest udbredte Skimmelsvampe vare Penicil. glaucum, Mucor stolonifer og Demat. pullulans, men de to sidstnævnte iagttoges ingensinde i Gjæringskjælderne.

Foruden det interessante Fund af de rødfarvede Gjærsvampe, som udførligere behandles i det Følgende, kan her ogsaa nævnes den røde Bacil, der i Novbr. rimeligvis med Sneen er kommen ned i den udsatte Urt. Botrytis cinerea, som beskyldes for at fremkalde en af Vinens Sygdomme, der bestaar deri, at vedkommende Vædske faar Lugt og Smag af Røg, har ligeledes særlig Interesse for os. Den optraadte kun i det Frie, nemlig i Luften omkring Altanen, under Vinrankerne og under Blommetræerne. Det er rimeligt, at der gives visse Arnesteder, hvor Luftens Mikroorganismer fostres, og hvorfra de ved Vindens Hjælp udbredes. Et saadant Arnested for Botrytis cinerea var vistnok Septbr. Maaneds hendøende Plantedele.

Sammenfatte vi de foregaaende Træk i et Billede, saa se vi, at Luften i og omkring Carlsberg i det henrundne Aar har været opfyldt med Skyer af forskjellige, for det blotte Øje usynlige Væsener. Disse Skyer svævede sikkert uafbrudt omkring, men vare indbyrdes adskilte ved Mellemrum, hvor ingen Sporer eller Kim fandtes. Selv paa nærliggende Steder indeholdt Skyerne til samme Tid forskjellige Arter; Bakterier og Gjærsvampe optraadte ikke altid deri, hyppigere vare Sporer af Skimmelsvampe. Flere af Arterne svævede ikke blot om i det Frie, men ogsaa inde i Boligerne og i Gjæringskjælderne; nogle fandtes kun udenfor. Her viste der sig nogen Forskjel i Skyernes Indhold efter Aarets forskjellige Tider, derimod næppe efter Lokaliteterne. Da Vinteren

begyndte, forsvandt Gjærsvampene i den frie Natur; Sacch. apiculatus var den, der holdt længst ud; men i Decbr. Maaneds Frostluft i Haven fandtes kun nogle Skimmelsvampe og smaa Stavbakterier.

2. Om Hinderne.

Det er en bekjendt Sag, at der paa Overfladen af organiske Vædsker, som i aabne Kar udsættes for Luftens Paavirkning, efter kortere eller længere Tids Forløb dannes Hinder af forskjellig Beskaffenhed. Vinens, Øllets og Eddikens ere navnlig saavel i Omgangssproget som i Literaturen blevne rigt udstyrede med Navne: »Mug, Skimmel, Kahmhaut, Essigmutter, fleur du vin, fleur de la bière, fleur du vinaigre, mère du vinaigre, fiore dell' aceto, wine flower, flower of vinegar,« o. s. v. Billroth har i sit Værk om Coccobacteria septica givet nogle Meddelelser om saadanne Hinder, men de ere ikke blot faa og ufuldstændige, men tillige upaalidelige. Cohn og Cienkowski have ogsaa beskjæftiget sig med disse Dannelser, dog væsentlig kun for at studere en eller anden af de deri forekommende Organismer. En egentlig Fremstilling af Hindernes Udvikling og de Betingelser, hvorunder de dannes, findes, saavidt jeg ved, intet Steds; men hertil kræves ogsaa en vel indrettet Thermostat, indeholdende flere Afdelinger med forskjellige konstante Temperaturgrader, og et saadant kostbart Apparat findes langtfra i ethvert Laboratorium. Carlsberg er i denne som i flere andre Retninger særlig begunstiget.

Jeg begyndte mine Studier over de Hinder, som fremkomme paa Overfladen af Øl, nærmest for derved at stifte Bekjendtskab med de Organismer, der optræde i denne Vædske, og hertil frembøde disse Dannelser i Virkeligheden et ypperligt Materiale. Der gaves dog ogsaa samtidigt hermed Anledning til andre Undersøgelser, som f. Ex. over Hindernes Dannelsesmaade, over de forskjellige Temperaturgraders Indflydelse paa Udviklingen af de optrædende Organismer og over disses indbyrdes Strid om Næringsbunden. Da saadanne Iagttagelser paa lignende Maade som andre beslægtede, f. E. Salomonsens Studier over Blodets Forraadnelsespletter, blandt Andet ogsaa yde Bidrag til de paagjældende Skabningers Biologi, saa har jeg nøjagtigt optegnet dem og meddeler nedenfor i et lille Udtog nogle af de mest karakteristiske Exempler, hvortil der knyttes

almindelige Bemærkninger. De benyttede Vædsker bleve heldte i aabne Glas, bestandig af nogenlunde samme Størrelse, og derpaa strax satte ind i Thermostaten.

Jydsk overgjæret Landøl.

(c. 0,5 % Alkohol; 4—5 % Extrakt).

Fire forskjellige Prøver A, B, C, D.

A.

32—33° C. 1 Dags Henstand: En foldet, graaladen, melet Hinde, der fortrinsvis bestaar af Oidium lactis; kun faa smaa Stavbakterier.

19—20° C. 2 Dages Henstand. En tyk, stærkt foldet, melet, filtet, hvidlig Hinde, bestaaende af Oidium lactis og Saccharomyces Mycoderma i Forening med faa smaa Stavbakterier.

9—10° C. 3 Dages Henstand. En svagt foldet, graa, mat, meget tynd Hinde, som især er dannet af Saccharomyces Mycoderma; kun faa Hyfer af Oidium lactis og faa smaa Stavbakterier.

2—3° C. 7 Dages Henstand. En graa, mat, jævn, meget tynd Hinde, fornemlig dannet af Saccharomyces Mycoderma, yderst faa smaa Stavbakterier og Hyfer af Oidium lactis.

B.

32—33° C. 1 Dags Henstand. En tyk, stærkt foldet, melet, filtet, lysgraa Hinde, næsten udelukkende dannet af Oidium lactis; kun faa smaa Stavbakterier.

19—20° C. 2 Dages Henstand. En lignende Hinde som i det foregaaende Tilfælde.

9—10° C. 4 Dages Henstand. En Hinde af væsentlig samme Udseende som de to foregaaende; den er fornemlig bygget af Oidium lactis og Saccharomyces Mycoderma; kun meget faa smaa Stavbakterier.

2—3° C. 22 Dages Henstand. En tyk, foldet, graa, mat Hinde, hvori kun iagttoges Saccharomyces Mycoderma, dels med normale Led, dels med de af Cienkowski beskrevne Mycelie-Forgreninger.

C.

32—33° C. 4 Dages Henstand. En jævn, tynd, graa, mat Hinde, der fortrinsvis dannes af smaa Stavbakterier og Spirillum

tenue; desuden findes Mycoderma Pasteurianum og Saccharomyces Mycoderma.

19—21° C. 5 Dages Henstand. En Hinde af lignende Beskaffenhed som den foregaaende, dog var Saccharomyces Mycoderma vistnok her til Stede i et større Antal.

9—11° C. 14 Dages Henstand. En tynd, marmoreret Hinde, dels bestaaende af lysgraa, matte Felter og dels af lidt mørkere, slimede, derimellem værende Flammefigurer. Felterne ere næsten udelukkende dannede af Saccharomyces Mycoderma, medens den øvrige Del beherskes af smaa Stavbakterier; de tilstedeværende Organismer synes i det Hele at have delt Herredømmet ligeligt.

2—4° C. 30 Dages Henstand. En tynd, graa, mat Hinde, der fornemlig bestaar af Saccharomyces Mycoderma; desuden findes nogle smaa Stavbakterier og Mycoderma Pasteurianum.

D.

32—33° C. 3 Dages Henstand. En tynd, temmelig jævn, graa, mat Hinde, fortrinsvis bestaaende af smaa Stavbakterier og Bacillus subtilis; desuden findes Saccharomyces Mycoderma.

19—20° C. 2 Dages Henstand. En tynd, svagt foldet, graa, mat Hinde, der især dannes af Saccharomyces Mycoderma; desuden optræde smaa Stavbakterier.

9—10° C. 6 Dages Henstand. En Hinde som den foregaaende.

2—3° C. 28 Dages Henstand. En tynd, graa, marmoreret Hinde med matte Felter og glindsende Flammefigurer; disse ere væsentligst dannede af smaa Stavbakterier og enkelte Exempl. af Mycoderma aceti, hine derimod af Saccharomyces Mycoderma, dels normale Led, dels Mycelie-Forgreninger.

Résumé:

32—33°	C.	1	Dag.	Oid. lactis.
—	-	1	—	do.
—	-	4	—	Smaa Stavbakt., Spiril. tenue.
—	-	3	—	Smaa Stavbakt., Bacill. subtilis.
19—20°	-	2	—	Oid. lactis, Sacch. Mycoderma.
—	-	2	—	Oid. lactis.
19—21°	-	5	—	Smaa Stavbakt., Spiril. tenue.
19—20°	-	2	—	Sacch. Mycoderma.
9—10°	-	3	—	do.
—	-	4	—	Oid. lactis, Sacch. Mycoderma.
9—11°	-	14	—	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.
9—10°	-	6	—	Sacch. Mycoderma.

2—3° C.	7 Dage.	Sacch. Mycoderma.
— -	22 —	do.
2—4° -	30 —	do.
2—3° -	28 —	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.

I denne og de følgende Oversigtstabeller af samme Art angiver den første Række Temperaturerne i forskjellige Afdelinger af Thermostaten, medens den anden betegner den Tid, i hvilken den indsatte Vædske har været udsat for den ligeudfor optegnede Varmegrad, førend der dannedes en Hinde paa dens Overflade, og den tredie den eller de Organismer, som under de saaledes bestemte Forhold fortrinsvis havde Magten. Af ovenstaaende Tabel ses, at Hinden dannedes hurtigst i de Tilfælde, hvor Oidium lactis var den fremherskende, nemlig efter 1—2 Dages Forløb. En gunstig Temperatur for denne Art er 19—33° C.; ved disse høje Varmegrader kunne de smaa Stavbakterier, Bacillus subtilis og Spirillum tenue dog ogsaa godt trives. Saccharomyces Mycoderma har især Overhaand ved lavere Temperaturgrader og formaar at udvikle sig ved saadanne, som strække sig lige fra 2—33° C.; i Isskabet ved 2—4° C. udvikler den det af Cienkowski først rigtigt beskrevne Mycelium.

Sjællandsk overgjæret Landøl.

(c. 0,6% Alkohol; 5% Extrakt).

30—32° C. 6 Dages Henstand. En meget tynd, graagul, slimet Hinde, fornemlig bestaaende af smaa Stavbakterier; kun faa Exempl. af Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti.

21—23° C. 11 Dages Henstand. En tynd, graa Hinde, dannet dels af Saccharomyces Mycoderma og dels af smaa Stavbakterier.

10° C. 21 Dages Henstand. En tynd, i sin største Strækning slimet Hinde, med en lille graa, mat Plet; denne bestaar næsten udelukkende af Saccharomyces Mycoderma; forøvrigt findes navnlig smaa Stavbakterier; kun faa Exempl. af Mycoderma aceti og af Bacillus subtilis.

5—7° C. 29 Dages Henstand. En for største Delen slimet Hinde, med et Par graa, matte Pletter, hvilke især bestaa af Saccharomyces Mycoderma; i de slimede Strækninger findes fortrinsvis smaa Stavbakterier, men kun faa Exempl. af Mycoderma aceti.

3° C. 36 Dages Henstand. En tynd, gulgraa, slimet Hinde, fornemlig bestaaende af smaa Stavbakterier; enkelte Exempl. af Mycoderma aceti.

Résumé:

30—32° C.	6 Dage.	Smaa Stavbakt.	
21—23° -	11 —	Smaa Stavbakt.,	Sacch. Mycoderma.
10° -	21 —	do.	do.
5—7° -	29 —	do.	do.
3° -	36 —	Smaa Stavbakt.	

I denne Forsøgsrække have de smaa Stavbakterier især havt Herredømmet, og Hinderne havde i Overensstemmelse hermed gjennemgaaende et mere eller mindre slimet, glindsende Udseende. De udviklede sig som sædvanligt hurtigst ved de højere Temperaturgrader, og de graa, matte Pletter, de indeholdt, vare ogsaa her dannede af Sacch. Mycoderma.

Kjøbenhavnsk Hvidtøl.

(c. 0,8% Alkohol; 9% Extrakt).

2 Prøver A og B.

A.

42° C. 3 Dages Henstand. En tynd, graa, svagt marmoreret Hinde, fornemlig bestaaende af Mycoderma Pasteurianum; desuden enkelte Exempl. af Bacillus subtilis og af Saccharomyces cerevisiæ.

33° C. 1 Dags Henstand. En tynd, graa, marmoreret, mat Hinde, der især bestaar af Mycoderma Pasteurianum; endvidere nogle Saccharomyces cerevisiæ, Baciller og smaa Stavbakterier.

26° C. 2 Dages Henstand. En tynd, svagt foldet graa Hinde, næsten udelukkende bestaaende af Mycoderma Pasteurianum; kun faa smaa Stavbakterier.

21° C. 3 Dages Henstand. En Hinde af væsentlig samme Beskaffenhed som den foregaaende, dog fandtes her foruden de i denne nævnte Organismer nogle Exempl. af Bacillus subtilis og af Saccharomyces cerevisiæ.

12° C. 6 Dages Henstand. En tynd, marmoreret Hinde, med graa, matte Felter og slimede Flammefigurer; disse ere fortrinsvis dannede af smaa Stavbakterier; indblandede findes enkelte Exempl. af Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti. I Felterne hersker fornemlig Saccharomyces Mycoderma.

10° C. 6 Dages Henstand. En Hinde som den foregaaende.

5° C. 12 Dages Henstand. En tynd, marmoreret, graa, mat Hinde, navnlig dannet af Saccharomyces Mycoderma; desuden temmelig talrige smaa Stavbakterier, enkelte Exempl. af Mycoderma aceti og af Bacillus subtilis.

B.

42° C. 2 Dages Henstand. En tynd, graa, svagt foldet, mat Hinde, bestaaende af Mycoderma Pasteurianum.

33° C. 2 Dages Henstand. En graagul, svagt foldet Hinde, fornemlig dannet af Mycoderma Pasteurianum og smaa Stavbakterier; desuden enkelte Exempl. af Bacillus subtilis.

26° C. 2 Dages Henstand. En tynd, graagul, foldet Hinde, der især bestaar af smaa Stavbakterier og Mycoderma Pasteurianum; kun faa Exempl. af Bacillus subtilis.

21° C. 2 Dages Henstand. En meget tynd, marmoreret Hinde med graa, matte Felter og slimede Flammefigurer; sidstnævnte bestaa fornemlig af smaa Stavbakterier og Mycoderma Pasteurianum samt nogle faa Exempl. af Bacillus subtilis; i Felterne findes navnlig Saccharomyces Mycoderma.

15° C. 4 Dages Henstand. En tynd, graa, mat Hinde, hvori især findes Saccharomyces Mycoderma og smaa Stavbakterier; endvidere nogle Exempl. af Mycoderma Pasteurianum og af Bacillus subtilis.

12° C. 6 Dages Henstand. En tynd, marmoreret Hinde med graa, matte Felter og slimede, derimellem værende Flammefigurer; disse ere fornemlig dannede af Mycoderma Pasteurianum, hine af Saccharomyces Mycoderma.

10° C. 6 Dages Henstand. En Hinde af samme Udseende som foregaaende, men med større Udbredelse af Saccharomyces Mycoderma; Flammefigurerne blive herved mindre, og de indeholde foruden smaa Stavbakterier enkelte Exempl. af Mycoderma Pasteurianum og af Bacillus subtilis.

5° C. 18 Dages Henstand. En Hinde af væsentlig samme Beskaffenhed som foregaaende.

Résumé:

42° C.	3	Dage.	Myc. Pasteurianum.
—	2	—	do.
33° C.	1	—	do.
—	2	—	Myc. Pasteurianum, smaa Stavbakt.
26° C.	2	—	Myc. Pasteurianum.
—	2	—	Smaa Stavbakt., Myc. Pasteurianum.
21° C.	3	—	Myc. Pasteurianum.
—	2	—	Smaa Stavbakt., Myc. Pasteurianum, Sacch. Mycod.
15° C.	4	—	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.
12° C.	6	—	Smaa Stavbakt., Sacch. Mycoderma.
—	6	—	Myc. Pasteurianum, Sacch. Mycoderma.
10° C.	6	—	Smaa Stavbakt., Sacch. Mycoderma.

10° C.	6 Dage.	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.
5° C.	12 —	Sacch. Mycoderma.
—	18 —	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.

Ved 42° C. havde altsaa Myc. Pasteurianum aldeles Overmagten; ved 33° og lavere Temperaturer begyndte den at dele Herredømmet med de smaa Stavbakterier. Først ved 21° C. optraadte Saccharomyces Mycoderma som kraftig Medbeiler, og Striden om Næringsbunden førtes nu mellem de tre nævnte Former; tilsidst dog væsentlig kun mellem Saccharomyces Mycoderma og de smaa Stavbakterier, idet Mycoderma Pasteurianum, efterhaanden som Varmegraden stærkt nærmer sig 0, maa trække sig tilbage for de to andre. Hinden dannedes hurtigst ved 33° C., nemlig i Løbet af een Dag, og den bestod da væsentligst af Mycoderma Pasteurianum. Ved lavere Varmegrader krævedes længere Tid hertil, ved 15° C. 4, ved 12—10° C. 6 og endelig ved 5° C. 12 eller 18 Dage. De marmorerede og foldede Hinder, hvori Sacch. Mycoderma ikke optræder, adskille sig tydeligt ogsaa for det blotte Øje fra dem, hvori denne Art udvikler sine karakteristiske matte Felter eller tykke Foldninger. Skjøndt det er temmelig let at bemærke Forskjellen, er det dog vanskeligt at udtrykke den med Ord.

Kjøbenhavnsk sødt Dobbeltøl.

(c. 2% Alkohol; 16% Extrakt).

2 Prøver A og B.

A.

42° C. 3 Dages Henstand. En tynd, graa, temmelig mat Hinde, bestaaende af Mycoderma Pasteurianum med enkelte bacillus-lignende Traade, som afsnøre korte Led.

33° C. 2 Dages Henstand. En tynd, gulgraa, svagt foldet Hinde, der fortrinsvis bestaar af Mycoderma Pasteurianum.

26° C. 2 Dages Henstand. En Hinde som foregaaende.

21° C. 3 Dages Henstand. En tynd, marmoreret, graa, mat Hinde, udelukkende bestaaende af Mycoderma Pasteurianum.

12° C. 7 Dages Henstand. En tynd, marmoreret, slimet Hinde, væsentlig bestaaende af smaa Stavbakterier; kun enkelte Exempl. af Bacillus subtilis.

10° C. 10 Dages Henstand. En Hinde som foregaaende.

5° C. 17 Dages Henstand. En tynd, graa, mat Hinde, der fornemlig bestaar af Saccharomyces Mycoderma, dels korte Celler,

dels meget langstrakte som Cienkowski's Mycelieform; desuden enkelte Exempl. af Mycoderma Pasteurianum og faa smaa Stavbakterier.

B.

42° C. 2 Dages Henstand. En tynd, graaladen, temmelig mat Hinde, næsten udelukkende bestaaende af Mycoderma Pasteurianum, desuden nogle smaa Stavbakterier og Bacillustraade, som afsnøre korte Led, og faa Exempl. af Saccharomyces cerevisiæ.

33° C. 2 Dages Henstand. En gulgraa, foldet Hinde, bygget af de samme Organismer som den foregaaende og i samme Forhold.

26° C. 2 Dages Henstand. En foldet, lysgraa Hinde, fornemlig bestaaende af Saccharomyces Mycoderma; desuden ret talrige Exempl. af Mycoderma Pasteurianum, ret talrige smaa Stavbakterier og nogle Baciller.

21° C. 2 Dages Henstand. En Hinde væsentlig som foregaaende.

15° C. 4 Dages Henstand. En lignende Hinde som foregaaende.

12° C. 4 Dages Henstand. En lignende Hinde som foregaaende.

10° C. 7 Dages Henstand. En stærkt foldet, lysgraa Hinde, fornemlig bestaaende af Saccharomyces Mycoderma og smaa Stavbakterier; desuden nogle Exempl. af Mycoderma aceti.

5° C. 14 Dages Henstand. En tynd, graa, mat Hinde, dannet paa lignende Maade som foregaaende.

Résumé:

42° C.	3	Dage.	Myc. Pasteurianum.
—	2	—	do.
33° C.	2	—	do.
—	2	—	do.
26° C.	2	—	do.
—	2	—	Sacch. Mycoderma.
21° C.	3	—	Myc. Pasteurianum.
—	2	—	Sacch. Mycoderma.
15° C.	4	—	do.
12° -	7	—	Smaa Stavbakt.
—	4	—	Sacch. Mycoderma.
10° C.	10	—	Smaa Stavbakt.
—	7	—	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.
5° -	17	—	Sacch. Mycoderma.
—	14	—	Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakt.

Mycoderma Pasteurianum har altsaa ogsaa i disse Forsøgsrækker aldeles havt Overmagten ved de højere Temperaturer, her 42 og 33° C.; og ligesom i de foregaaende Tilfælde, hvor Talen var om Kulturer af Hvidtøl, har denne Art ogsaa her ved lavere Varmegrader efterhaanden maattet dele Magten med Saccharomyces Mycoderma og de smaa Stavbakterier for tilsidst at blive fortrængt af disse og da navnlig af den førstnævnte. De almindelige Bemærkninger i det foregaaende Résumé om Temperaturens Indflydelse paa den Tid, der kræves til Hindernes Dannelse, gjælde ogsaa om denne og tillige om de følgende Forsøgsrækker; det Samme kan siges angaaende Bemærkningerne om Hindernes Udseende.

Carlsberg Double Brown Stout.

(c. 4,3 % Alkohol, 8,8 % Extrakt).

2 Prøver A og B.

A.

42° C. 6 Dages Henstand. Der har endnu ikke dannet sig nogen Hinde, men Vædsken er indtørret til en næsten sirupsagtig Masse, paa hvis matgraa Overflade der findes talrige af de i Fig. 71, Tavle II afbildede Former.

36° C. 5 Dages Henstand. En tynd, graaladen Hinde, fornemlig bestaaende af smaa Stavbakterier, endvidere nogle Exempl. af Saccharomyces Mycoderma og meget faa af Bacillus subtilis.

26° C. 7 Dages Henstand. En meget tynd, graa, mat Hinde, der især er dannet af smaa Stavbakterier; desuden temmelig mange Exempl. af Bacillus subtilis.

21° C. 5 Dages Henstand. En tynd, graaladen, svagt rynket Hinde, fortrinsvis dannet af smaa Stavbakterier; desuden temmelig talrige Exempl. af Saccharomyces Mycoderma og nogle faa af Bacillus subtilis.

16° C. 5 Dages Henstand. En Hinde som foregaaende.

10° C. 9 Dages Henstand. En Hinde væsentlig som foregaaende.

6° C. 16 Dages Henstand. En tynd, marmoreret Hinde med matte Felter og slimede Flammefigurer; disse beherskes fortrinsvis af smaa Stavbakterier, hine derimod af Saccharomyces Mycoderma.

2° C. 58 Dages Henstand. En tynd, marmoreret Hinde, bestaaende af store, graa, matte Felter og lyse, gulgraa, noget glindsende Flammefigurer. Paa Glassets Væg, lidt ovenover Hinden, har der begyndt at vise sig Skimmel, og den er derfra i Færd med at vandre ud paa selve Hinden. Felterne bestaa næsten

udelukkende af Saccharomyces Mycoderma, Flammefigurerne fortrinsvis af de smaa Stavbakterier; endvidere findes her nogle Exempl. af Mycoderma aceti og bacilluslignende Traade, som afsnøre korte Led.

B.

42° C. 7 Dages Henstand; forøvrigt som A.

35—36° C. 5 Dages Henstand. En tynd, slimet, graaladen Hinde, fornemlig bestaaende af smaa Stavbakterier; desuden nogle Exempl. af Saccharomyces Mycoderma, Mycoderma aceti og af bacilluslignende Traade, som dele sig i korte Led.

33° C. 5 Dages Henstand. En tynd, slimet, graa Hinde med lysere, noget gulladen Marmorering, fornemlig bestaaende af smaa Stavbakterier; desuden nogle Exempl. af Bacillus subtilis.

26° C. 7 Dages Henstand. En marmoreret Hinde med graa, matte Felter og gulgraa, slimede Flammefigurer; i disse findes fortrinsvis smaa Stavbakterier, endvidere enkelte Exempl. af Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti, i hine navnlig Saccharomyces Mycoderma.

21° C. 8 Dages Henstand. En lignende Hinde som foregaaende.

17° C. 6 Dages Henstand. En Hinde væsentlig som foregaaende.

11° C. 9 Dages Henstand. En Hinde væsentlig som foregaaende.

5—7° C. 15 Dages Henstand. En Hinde som foregaaende.

2—3° C. 58 Dages Henstand. En Hinde af i det Hele samme Udseende og Beskaffenhed som de nærmest foregaaende, dog ingen Bacillus subtilis. Paa Glassets Rand findes blaagraa Skimmel, dannet af Penicillium glaucum, som er i Færd med at vandre ud over Hinden. Saccharomyces Mycoderma optræder med sin Mycelieform.

Résumé:

42° C.	6	Dage.	Ingen Hinde; Vædsken indtørret til en sirupsagtig Masse.
—	7	—	do. do.
36° C.	5	—	Smaa Stavbakt.
35—36° -	5	—	do.
33° -	5	—	do.
26° -	7	—	do.
—	7	—	Smaa Stavbakt., Sacch. Mycoderma.
21° C.	5	—	Smaa Stavbakt.
—	8	—	Smaa Stavbakt., Sacch. Mycoderma.

16° C.	5 Dage.	Smaa Stavbakt.		
17° -	6 —	Smaa Stavbakt.,	Sacch. Mycoderma.	
10° -	9 —	Smaa Stavbakt.		
11° -	9 —	Smaa Stavbakt.,	Sacch. Mycoderma.	
6° -	16 —	do.	do.	
5—7° -	15 —	do.	do.	
2° -	58 —	do.	do.	
2—3° -	58 —	do.	do.	

Ved 42° C. optraadte altsaa ingen Hinde, og ved Temperaturgrader fra 36—26° C. havde de smaa Stavbakterier Overherredømmet; derpaa maatte de dele det med Saccharomyces Mycoderma.

Carlsberg Lagerøl.

(c. 4% Alkohol; 5% Extrakt).

42° C. 10 Dages Henstand. Den største Del af Vædsken bortdampet; ingen Hinde.

33° C. 3 Dages Henstand. En tynd, graaladen, jævn Hinde, udelukkende bestaaende af Mycoderma aceti. Klar, brunladen Vædske med tydelig Lugt af Eddikesyre.

25—26° C. 4 Dages Henstand. En tynd, slimet, graaladen Hinde, for Størstedelen dannet af smaa Stavbakterier; desuden findes nogle Exempl. af Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti. Vædsken er gulladen og uklar.

18° C. 5 Dages Henstand. En tynd, graaladen, lidt slimet Hinde, væsentlig dannet af smaa Stavbakterier; desuden findes enkelte Exempl. af Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti.

10° C. 11 Dages Henstand. En tynd, graaladen Hinde, dels bestaaende af et større, lidt slimet Parti, dels af matte Pletter. I det slimede Parti findes smaa Stavbakterier og nogle faa Exempl. af Bacillus subtilis, i de matte Pletter fortrinsvis Saccharomyces Mycoderma og som underordnet Indblanding de ovennævnte Bakterieformer.

2—3° C. Efter 1 Maaneds Forløb fandtes endnu ingen fuldstændig Hinde, men kun nogle smaa Øer, dannede af Saccharomyces Mycoderma med mycelielignende Forgreninger.

Résumé:

42° C.	10 Dage.	Ingen Hinde; den største Del af Vædsken bortdampet.
33° -	3 —	Myc. aceti.
25—26° -	4 —	Smaa Stavbakt.
18° -	5 —	do.

10° C.	11 Dage.	Smaa Stavbakt., Sacch. Mycoderma.
2—3°	- over 30 —	Sacch. Mycoderma.

Ved 42° C. udvikledes altsaa ingen Hinde; ved 33° C. bestod den udelukkende af Myc. aceti, og den fremkom hurtigst ved denne Temperatur, nemlig efter 3 Dages Forløb. Her maa ogsaa bemærkes, at Vædsken i dette Tilfælde havde tydelig Lugt af Eddikesyre, var klar og havde bevaret sin oprindelige, smukke, brunladne Farve. Ved Temperaturgrader fra 26—18° C. havde de smaa Stavbakterier aldeles Herredømmet, men maatte ved de lavere Varmegrader efterhaanden dele det med Saccharomyces Mycoderma. Hvor de smaa Stavbakterier optraadte, var Vædsken affarvet, gulladen og uklar.

Carlsberg Beer.

(c. 5% Alkohol; 6,2% Extrakt).

42° C. 10 Dages Henstand. Den største Del af Vædsken bortdampet; ingen Hinde.

33° C. 6 Dages Henstand. En tynd, lidt slimet, graaladen Hinde, bestaaende af smaa Stavbakterier og Mycoderma aceti. Noget uklar, gulladen Vædske.

25—26° C. 6 Dages Henstand. En tynd, lidt slimet, graaladen Hinde, der næsten udelukkende bestaar af smaa Stavbakterier; herimellem findes enkelte Exempl. af Saccharomyces Mycoderma, Bacillus subtilis og af Mycoderma aceti. Uklar, gulladen, Vædske.

18° C. 5 Dages Henstand. En tynd, jævn, graaladen, mat Hinde, der næsten aldeles er dannet af Saccharomyces Mycoderma; foruden denne findes nogle faa smaa Stavbakterier.

10° C. 11 Dages Henstand. En Hinde som foregaaende.

2—3° C. Efter en Maaneds Henstand fandtes endnu ingen fuldstændig Hinde, men kun enkelte, yderst smaa Øer, dannede af et grenet, septeret, vandgraat Mycelium uden Fruktifikation.

Résumé:

42° C.	10 Dage.	Ingen Hinde; den største Del af Vædsken bortdampet.
33° -	6 —	Smaa Stavbakt., Myc. aceti.
25—26° -	6 —	Smaa Stavbakt.
18° -	5 —	Sacch. Mycoderma.
10° -	11 —	do.
2—3°	- over 30 —	Grenet, septeret, vandgraat Mycelium uden Fruktifikation.

Ligesom i de foregaaende Tilfælde dannedes der ingen Hinde ved 42° C. Myc. aceti optraadte vel ogsaa her ved 33° C., men maatte dele Pladsen med de smaa Stavbakterier, og i Overensstemmelse dermed var Vædsken noget uklar og gulladen. Sidstnævnte Bakterier havde Overherredømmet ved 25° C. Efterhaanden som Temperaturen blev lavere, maatte de give tabt for Saccharomyces Mycoderma.

---

1. Hinderne dannedes altsaa hurtigst ved de højere Temperaturgrader; ved 42° C. udebleve de dog ofte. I de Tilfælde, hvor deres Overflade var graaladen, mat, vare de udelukkende eller dog fortrinsvis byggede af Sacch. Mycoderma, imellem hvis Celler der almindelig findes rigelig Luft. Havde Hinderne et glindsende, slimet Udseende, saa bestode de væsentligt af smaa Stavbakterier, og Vædsken var da uklar, affarvet, gulladen (dette gjælder i det Mindste med Hensyn til Carlsberg Lagerøl og Carlsberg Beer samt den her i Bryggeriet benyttede Urt). Naar de to sidstnævnte Ølsorters Hinder udelukkende bestode af Myc. aceti, Myc. Pasteurianum eller Sacch. Mycoderma, bevarede de nedenunder værende Vædsker bestandig deres smukke brune Farve og forbleve klare. Pasteur har i Henseende til Urt, som var bedækket med Mucor, bemærket noget Lignende.
2. De marmorerede Hinder bestode meget hyppig af matte Felter og derimellem værende slimede Flammefigurer; det Hele fik herved en ikke ringe Lighed med broget Marmor. Heri vare da, som man kunde vente, Felterne dannede af Sacch. Mycoderma og Flammefigurerne af smaa Stavbakterier; paa Grændserne, hvor de stridende Organismer mødtes, vare de regelmæssigt sammenblandede, men længere borte fra disse fandtes ofte en næsten fuldstændig Renkultur.
3. Af de Oplysninger, som de her omhandlede Undersøgelser have bragt frem, kan navnlig fremhæves den Iagttagelse, at Carlsberg Lagerøl i aabne Glas ved c. 33° C. regelmæssig giver en fuldstændig eller næsten fuldstændig ren Vegetation af Myc. aceti[1]). Varmegrader fra 30—34° C ere overhovedet

[1]) Den samme Erfaring har jeg ogsaa gjort med Hensyn til andre undergjærede Ølsorter med en lignende Alkoholmængde. En ringe Forandring i vedkommende Ølsorts sædvanlige Sammensætning, saa

meget gunstige for begge Mycodermaarterne. Ved Experimenter med disse Gjæringsorganismer haves herved et betydningsfuldt Hjælpemiddel til Fremstilling af de nødvendige Renkulturer. Lave Varmegrader nær Nul taale de ikke godt.

4. Her har i Reglen Sacch. Mycoderma Herredømmet og fører Kampen om Næringsbunden med de smaa Stavbakterier; i Isskabet optræder den ofte med sin Mycelieform.
5. Efterhaanden som Temperaturen stiger, faa i Reglen de smaa Stavbakterier større Magt, og Sacch. Mycoderma maa trække sig noget tilbage; den kan vel leve og udvikle sig ved en Temperatur fra 2—33° C., men ved en Varmegrad over 26° C. formaar den ikke at hævde sig overfor Medbejlerne; c. 15° C. fandt jeg var i Almindelighed en gunstig Temperatur for den.
6. De smaa Stavbakterier, Bacillus subtilis og Spirillum tenue elske stærk Varme, f. Ex. 33° C.; men førstnævnte kunne dog ogsaa, som vi have set, nær Nul give en kraftig Vegetation.

---

3. De af mig i Øl og Ølurt iagttagne Organismer[1]).

Ascomycetes.

1. Eurotium Aspergillus glaucus De Bary.

[De Bary: Beitr. z. Morphologie und Physiologie der Pilze. Dritte Reihe 1870. Taf. VII, Fig. 18—21; Taf. VIII. — Aspergillus Nr. 1 Micheli: Nova plantarum genera 1729, p. 212, Tab. 91, Fig. 1. — Aspergillus glaucus Link: Observat. in ordines plantarum naturales. Dissertat. prima, p. 16. Tab. I, Fig. 23. (Magazin der naturf. Freunde in Berlin. III. 1809.) — Eurotium herbariorum Link: l. c. p. 31, Tab. II, Fig. 44. — Pasteur: Études sur la bière. 1876. p. 105, Fig. Fig. 21].

Hele Aaret igjennem almindelig paa raadnende, organiske Bestanddele. Jeg fandt den tillige paa Urt, som i Juli ubedækket

ubetydelig, at jeg ellers ikke kunde iagttage den, var dog undertiden tilstrækkelig til at forstyrre den omtalte Vegetation, saa at den enten slet ikke indtraadte eller idetmindste blev uren.

[1]) I den efterfølgende Fortegnelse har jeg til hver Art idetmindste citeret en kjendelig Afbildning og, hvor det lod sig gjøre, henvist til Figurerne i Pasteurs Études sur la bière.

havde været sat ned i Haven; den dannede her et grønbrunt, laaddent Lag, hvori der ikke blot fandtes en rig Konidiefruktifikation, men ogsaa talrige smaa, svovlgule Prikker, Sporokarpier.

2. Penicillium glaucum Link.

[Link: Observat. in ordines plantarum naturales. Dissertat. prima, p. 16 og 17, Tab. I, Fig. 24. (Magazin der naturf. Freunde in Berlin. III. 1809). — Penicil. crustaceum Fries: Systema mycol. III. 1829, p. 407. — Brefeld, Botan. Unters. über Schimmelpilze, II. Heft, 1874, mit 8 Tafeln].

Den optræder til Aarets forskjellige Tider allevegne, hvor Skimmelsvampe overhovedet kunne forekomme og er den mest udbredte af alle disse. I Øl viser den sig først med kraftig Vegetation og Konidieafsnøring, efterat der har dannet sig Hinder paa Overfladen, og disse ere blevne gamle; paa Urt optræder den med større Lethed.

3. Penicillium cladosporioides Fres.

[Fresenius: Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 22—23, Taf. III, Fig. 23—28].

Fresenius fandt den paa Undersiden af i det Frie overvintrede Blade af Hortensia, og jeg selv iagttog den nogle Gange i Skimmellaget, som dækkede Overfladen af Urt, der dels i Haven, dels i en nærliggende Villa havde været udsat for Luftens direkte Paavirkning. Den optraadte her som brungrønne, laadne Pletter. Askosporedannelse er endnu ikke opdaget hos den. Saavel selve Konidierne som og konidiebærende Led spirede 18 Timer, efterat jeg havde udsaaet dem i fortyndet Humleurt i et fugtigt Kammer, som var udsat for almindelig Stuevarme.

Zygomycetes.

1. Mucor racemosus Fres.

[Fresenius: Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 12, Taf. 1, Fig. 24—31. — Hertil høre vistnok de fleste Former, som tidligere bleve henførte til Slægten Hydrophora Tode. — Pasteur: Études sur la bière. 1876, p. 70, Fig 11 d, p. 105, Fig. 21; Pl V—VI og p. 137, Fig. 23].

Almindelig paa organiske Stoffer, som ere i Færd med at opløses; meget hyppig f. Ex. paa Exkrementer. Den findes ogsaa undertiden i Ølurt, som har staaet ubedækket.

2. Mucor mucedo L.

[Linné: Species plantarum ed. I. Holmiæ 1753, tom. II, p. 1185. — Mucor vulgaris Micheli: Nova plantarum genera, 1729, p. 215, Tab. 95, Fig. 1. — Mucor bifidus Fresenius: Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 10, Taf. I, Fig. 13—23. — Mucor murinus og Mucor caninus Persoon: Synopsis methodica fungorum, 1801, p. 201. — Brefeld: Botan. Unters. über Schimmelpilze, 1 Heft, 1872, mit 6 Tafeln. — Pasteur: Études sur la bière 1876, p. 139, Fig. 24].

Angaaende dens Forekomst gjælder, hvad der er sagt om Mucor racemosus.

3. Mucor stolonifer Ehrb.

[Ehrenberg: Sylvæ mycologicæ Berolinenses. 1818, p. 25. — Ascophora Mucedo Tode: Fungi Mecklenburgenses selecti, I, 1790, p. 13, Tab. III, Fig. 22. — Rhizopus nigricans Ehrenberg: De mycetogenesi (Nova acta, X, 1821. p. 198, Tab. XI, Fig. 1—7)].

Almindelig paa lignende Steder som de to andre Arter af samme Slægt, dog især hyppig paa saftige Plantedele. Urt, som jeg lod staa ubedækket i Haven, blev ligefra Maj til ind i December meget ofte angreben af den.

Hyphomycetes.

1. Botrytis cinerea Pers.

[Persoon: Synopsis methodica fungorum, 1801, p. 690. — Botr. plebeja Fresenius: Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 13, Taf. II, Fig. 1—7. — Polyactis sclerotiophila Rabenhorst: Klotzsch's herbarium vivum mycologicum Nr. 1668].

I graagule Tuer almindelig paa fugtige, hendøende Plantedele. Den optraadte ligeledes i Skimmellag paa Overfladen af Urt, der i September havde været udsat for Luftens direkte Paavirkning i Haven under Blommetræerne, under Vinrankerne og paa en Altan.

Skimmellapperne fra den ene af de omtalte Forsøgsrækker bleve anbragte i et Bægerglas, som derpaa blev dækket med en Glasplade. Efter nogle faa Dages Forløb havde der ikke blot udviklet sig en overordentlig yppig Konidiefruktifikation, men tillige nogle mørke, knoldformede Legemer; disse optraadte dog kun paa Skimmellappernes oprindelige Underside, der nu var vendt ind mod Glassets Væg. Ved en nøjere Undersøgelse viste det sig, at de vare Sklerotier af meget forskjellig Størrelse (2—8 Millim.) og

Form, baanddannede, krummede eller rette, puklede o. s. v. De havde en hvidlig, brusket, fast Marv og en tynd, sort, ujævn Bark med mat Overflade. Denne bestod af to Lag store, uregelmæssige eller runde Celler med sortebrune, ikke meget tykke Vægge, derpaa optraadte Celler, som dannede en jævn Overgang til Marven, der var bygget af meget tæt imellem hverandre snoede, septerede Hyfer med stærkt lysbrydende Vægge og næsten uden luftførende Mellemrum. De Bary's Afbildning heraf er noget skematisk, men gjengiver dog de væsentligste Træk af den beskrevne Bygning.

I et andet Tilfælde havde Sklerotierne udviklet sig i Skimmellaget, medens dette endnu laa paa Ølurtens Overflade.

2. Cladosporium herbarum Link.

[Linnés Species plantarum. Editio quarta curante Willdenow, continuata a Link, Berolini, 1824. Tom. VI, P. I. p. 39. — Dematium herbarum Persoon: Synopsis methodica fungorum, 1801, p. 699. — Dematium conicum Schumacher: Enumeratio plantarum. Pars posterior. 1803, p. 445. — Acladium herbarum Link: Observat. in ordines plantarum naturales. Dissertat. prima, p. 12, Tab. I, Fig. 17 (Magazin der naturf. Freunde in Berlin, III, 1809)].

Almindelig paa døde Plantedele saavel af Blomsterplanter som ogsaa af de blomsterløse, paa gammelt, fugtigt Papir, paa Urtepotter o. s. v., vistnok hele Aaret igjennem dog navnlig fra Eftersommeren til Foraaret. Den danner bløde, graagrønne eller smudsigt mørkegrønne Puder af forskjellig Form og Udstrækning. Jeg iagttog den ogsaa i Urt, som i Septbr. og Novbr. havde staaet ubedækket i Haven.

3. Dematium pullulans De Bary.

[De Bary: Morphologie und Physiologie der Pilze, 1866, p. 182—83, Fig. 73. — Exemples de germinations de cellules de la poussière extérieure des grappes de raisin. Pasteur: Études sur la bière, 1876, Pl. IX især Fig. G, I, J, K].

Almindelig paa Overfladen af Frugter og vistnok navnlig hyppig paa Vindruer om Efteraaret. Iblandt de mikroskopiske Organismer i Luften i og omkring Carlsberg, som jeg iagttog, var den en af de allerhyppigste, og den optraadte med i Reglen kraftig Vegetation i den udsatte Urt lige fra Maj til December.

4. Oidium lactis Fres.

(Hertil Tavle I. Fig. 1—19).

[Fresenius: Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 23, Taf. III, Fig. 41—43. — Mycoderma Malti-Juniperini Desmazières: Annales des sciences nat. Tome dixième 1827 p. 62. Pl. 3. Fig. 18—22. — Chalara Mycoderma Bonorden: Handbuch der allgemeinen Mykologie, 1851, p. 36, Fig. 27].

Almindelig paa Mælk og vistnok ogsaa paa Planteinfusioner; sjeldnere paa Ølvædsker og kun paa saadanne, der enten slet ikke indeholde Alkohol eller kun en ringe Mængde deraf.

5. Chalara Mycoderma Cienk.

(Hertil Tavle I. Fig. 20—28).

[Cienkowski: Die Pilze der Kahmhaut (Petersborg Akademiets Bullet. T. XVII, p. 566—89, Tab. II, Fig. 37—60)].

Jeg fandt denne Art i Forening med flere andre Organismer i September i en Hinde, som havde dannet sig paa Overfladen af Vand, hvori jeg havde anbragt Stykker af forskjellige Rødder og Mellemstokke. Saavel Konidierne som de korte Led spirede hurtigt i de fugtige Kamre med Humleurt som Næringsvædske og havde her efter neppe 24 Timers Forløb udviklet sig til grenede, septerede Hyfer. Udsaaningsforsøg i Humleurt og i Carlsberg Lagerøl, der vare heldte op i Glas, mislykkedes derimod; thi i den førstnævnte Vædske bleve de fortrængte af smaa Stavbakterier og i Øllet af Saccharomyces Mycoderma. Ved imidlertid at fortynde de to omtalte Vædsker stærkt med Vand fik jeg et Næringssubstrat, hvorpaa de udsaaede Konidier og Led efter nogle Dages Forløb dannede en hvidladen, tyk, klæbrig, sejg og lidt glindsende Hinde. Jeg foretog disse Undersøgelser, fordi denne Art af Cienkowski omtales som en af de Former, der meget ofte tage Del i Dannelsen af Hinderne paa organiske Vædsker, Vin, Øl, Mælk o. s. v.

Alle de Konidier, som en Celles Endeparti udvikler, afsnøres ifølge denne Forskers Opfattelse efterhaanden fra en og samme Sterigme; dette kan imidlertid ikke opstilles som en Regel uden Undtagelse; thi jeg har ofte iagttaget, at een Celle godt i sin ene Ende kan have flere Væxtpunkter, hvoraf hvert udvikler sin Konidie (Fig. 23—24); den herved opstaaede Gruppe er da ikke udsprungen fra eet Punkt, men fra flere, og tidt ikke successivt, men paa een Tid. Ved Kulturer i fugtige Kamre opnaade jeg aldrig Andet end den beskrevne Art, og der viste sig ingensinde

Tegn til Overgang imellem den, Saccharomyces Mycoderma og Oidium lactis, hvilket Cienkowski antyder.

Paa Kogjødning, som havde ligget nogle faa Dage i Stalden, optraadte i April foruden talrige Exempl. af Pilobolus crystallinus endvidere enkelte hvide Pletter, der for en Del bestode af Celler, som havde en vis Lighed med Oidium lactis, men som ved Udsæd paa Humleurt viste sig at høre til Chalara Mycoderma. De dannede nemlig efter 5 Dages Forløb (Værelsets Temperatur) en Hinde, og ved fra denne at foretage Udsæd paa ny Humleurt opnaade jeg ogsaa her meget hurtigt Hindedannelse. Konidierne vare gjennemgaaende noget større end de først omtalte fra Rodinfusion, de maalte 5—11 μ største Diameter. Forøvrigt stemme begge Formerne indbyrdes overens og ligeledes med Cienkowski's citerede Fremstilling. Formen fra Kogjødningen henhører maaske til den af ham omtalte, større, kraftigere Varietet.

Saccharomyces.

1. Saccharomyces cerevisiæ Meyen.

(Hertil Tavle I. Fig. 29—30).

[Meyen: Wiegmanns Archiv IV Jahrg. II Bd. — Torula cerevisiæ Turpin: Comptes rendus VII. 1838 p. 379. — Cryptococcus Fermentum Kützing: Phycologia generalis 1843 p. 148. — Cryptococcus cerevisiæ Kützing: Species algarum 1849 p. 146. — Hormiscium cerevisiæ Bail: Flora 1857 p. 417. — Pasteur: Études sur la bière 1876 p. 185—91 Fig. 39—42].

2. Saccharomyces ellipsoideus Reess.

[Reess: Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze. 1870 p. 82. Taf. III Fig. 1—7. — Pasteur: Études sur la bière 1876 p. 224 Fig. 58].

3. Saccharomyces exiguus Reess.

[Reess: Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze. 1870 p. 83. Taf. II Fig. 7—8].

4. Saccharomyces Pastorianus Reess.

[Rees: Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze 1870 p. 83. Taf. II Fig. 11—13. — Pasteur: Études sur la bière 1876 p. 150 Fig. 28. Pl. X—XI, p. 171—75 Fig. 33—37, Pl. XII].

5. Saccharomyces Mycoderma (Pers.?) Reess.

(Hertil Tavle I Fig. 31):

[Reess: Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze 1870 p. 83 Taf. IV Fig. 10—11. — Mycoderma mesentericum Persoon (?): Mycologia europæa. Sectio prima, 1822, p. 96. — Mycoderma cerevisiæ og Myc. vini Desmazières: Ann. sc. nat. 1 sér. tom. X 1827 p. 65. — Hormiscium vini og Horm. cerevisiæ Bonorden: Handbuch der allgemeinen Mykologie, 1851, p. 33, Taf. I Fig. 1—2. — Pasteur: Études sur la bière. 1876. Pl. IV].

Det er denne Form, som især er tilbøjelig til at angribe Øllet i Lagerkjelderen.

6. Saccharomyces apiculatus Reess.

[Reess: Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze 1870 p. 84, Taf. III Fig. 9—12. — Saccharomyces Reessii, Blankenhorn, Moritz og David: Ann. der Oenologie 3 B., 1873, p. 11, Taf. I, Fig. 2 og 4 B. 1874, p. 223 Taf. III. — Carpozyma apiculatum Engel: Les ferments alcooliques, 1872 p. 30—36 Fig. 6—7. — Pasteur: Études sur la bière 1876 p. 70 Fig. 11 b, p. 149 Fig. 27].

7. Saccharomyces glutinis (Fres.) Cohn.

(Hertil Tavle II. Fig. 42—44).

[Cohn: Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 B. 2 H. 1872 p. 187 Taf. III Fig. 6. — Cryptococcus glutinis Fresenius: Beiträge zur Mykologie 1850—63, Taf. VIII Fig. 43—46].

Alle disse Former udvikle sig i Øl og Ølurt.

Schizophytæ.

1. Spirillum tenue Ehrb.

(Hertil Tavle II. Fig. 56—57).

[Ehrenberg: Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, 1838, p. 84, Tab. V, Fig. XI].

I nogle Tilfælde iagttog jeg Tværdeling, Fig. 56 a og b, og de synes temmelig tilbøjelige til at opløses i Brudstykker. Jeg antager nemlig, at de i Fig. 56 fremstillede Former nærmest maa henføres til den her omhandlede Art; dog har jeg ingenlunde overseet, at de saavel som Fig. 57 a maaske ligesaa godt kunne henregnes til Vibrio serpens, saaledes som Cohn beskriver denne.

De optraadte saavel i Øl som i Urt, der i længere Tid mere eller mindre havde været udsat for Luftens Adgang, og fandtes ikke blot i Hinderne, men ogsaa i Bundfaldet. I unge, nydannede Hinder iagttog jeg dem aldrig. De fandtes ved Temperaturgrader fra 13—32° C.

2. Bacillus ruber Frank.

[Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 B., 3 H., 1875, p. 180, Taf. VI, Fig. 17].

I steriliseret Siposeurt, der paa en Altan i Novbr. Maaned 72 Timer blev udsat for Luftens direkte Paavirkning (se Undersøgelser over de Organismer, der til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften o. s. v. 14de Forsøgsrække). Jeg har Grund til at antage, at Kimene have været tilstede i Frostluften; de ere maaske komne ned i Flasken med Sneen. Den er ingensinde tidligere bleven iagttagen her paa Laboratoriet.

3. En gultfarvet Bacillus, der i Formen lignede den foregaaende, fandt jeg i Siposeurt, som, dækket med en Glasplade, havde staaet flere Dage i Laboratoriet.

Paa Vædskens Overflade optraadte der slimede, gulladne Masser og op mod Glassets Væg lignende Dannelser, men med stærkt kromgul Farve; heri fandtes den omtalte gule Bacil. Ligesom den foregaaende havde den ved paafaldende Lys, naar man betragtede den enkeltvis, en blaagraa Tone; hvor flere laa sammen, kom derimod en gul Farve frem.

Det er den anden pigmentdannende Bacil, som er iagttagen; jeg opsætter imidlertid dens systematiske Benævnelse, til jeg paany finder den og kan underkaste den et nøiere Studium.

4. Bacillus subtilis (Ehrb.) Cohn.

(Hertil Tavle II. Fig. 58—59)

[Cohn: Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 B., 2 H., 1872, p. 175, Taf. III, Fig. 14; 3 H., 1875, p. 188, Taf. V, Fig. 10—12; 2 B., 2 H., 1876, Taf. XI, Fig. 8—11. — Vibrio subtilis Ehrenberg: Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, 1838, p. 80, Tab. V, Fig. VI. — Pasteur: Études sur la bière, 1876, Pl. I, No. 1? Pl. II? Fig. 70, 72 og 74, p. 288—97].

Den findes i Øl og Urt ved forskjellige, dog navnlig høje Temperaturgrader, baade i Hinderne og i Bundfaldet.

5. Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur.

(Hertil Tavle II. Fig. 60—70).

[I Études sur le vinaigre, 1868, p. 11, siger Pasteur, at Persoon i 1822 har betegnet den her beskrevne Art med Navnet Mycoderma aceti. Dette beror dog sikkert paa en Fejltagelse; thi jeg har intetsteds i Persoon's Værker kunnet finde dette Navn. Det er denne Botaniker, som har opstillet Slægten Mycoderma, og i Mycologia europæa. Sectio prima, 1822, p. 96, beskriver han Mycoderma mesentericum, der nærmest synes at være syn. med Myc. aceti eller med Sacch. Mycoderma; muligvis er det dette Navn, som Pasteur tænker paa. — Som synonym anføres med større Ret Ulvina aceti Kützing: Unters. über die Hefe und Essigmutter (Journal für prakt. Chemie, 1837, II B., p. 389—91, Tab. II, Fig. VI—VIII). — Pasteur: Études sur la bière, 1876, Pl. I, No. 5].

Ved en ikke for lav Temperatur optræder den almindeligt i Øl, som udsættes for Luftens Adgang. For ret at kunne udvikle sig kræver den dog ikke blot megen fri Ilt, men og en temmelig høj Temperatur; c. 33° C. fandt jeg, var den gunstigste, naar Talen er om Øl, navnlig Carlsberg Lagerøl. I en vel indrettet Lagerkjelder vil der følgelig ikke være megen Grund til at frygte den.

6. Mycoderma Pasteurianum nov. spec.

(Hertil Tavle II. Fig. 60—70).

Fra den foregaaende adskiller den sig skarpt derved, at den ikke som denne farves gul men blaa af Jod; forøvrigt stemme de i den Grad morfologisk overens, at jeg har kunnet citere de samme Figurer for begge.

Den trives ligeledes bedst ved høje Temperaturer og danner ligesom dens nære Slægtning Hinder paa Overfladen af Øl, hvortil Luften har Adgang; vedkommende Vædske bliver da stærkt sur, med tydelig Lugt af Eddikesyre. Forholdsvis extraktrige Ølsorter som f. Ex. kjøbenhavnsk, sødt Dobbeltøl og Hvidtøl synes navnlig at fostre denne Art. I de Prøver af Eddike, som jeg undersøgte, fandt jeg den ingensinde, ejheller i Mæskningen eller paa Spaanerne i Eddikebryggerier.

Udførligere Oplysninger om denne og den foregaaende Art findes i det Følgende.

7. Bacterium Carlsbergense nov. sp.
(Hertil Tavle II. Fig. 55).

Ovale eller elliptiske, vandgraa Celler, 2—6 μ l., med ikke stærkt fremtrædende Omrids, svag Lysbrydning og i hver Ende en temmelig stærkt glindsende Plet; dels enkeltvis, dels forenede i Kjeder. Bevægelse iagttages ikke.

Denne Form er saa karakteristisk, at det vil være let efter den her givne Beskrivelse og Afbildning at gjenkjende den og adskille den fra de hidtil beskrevne Bakteriearter; jeg antager derfor, at det er rigtigt allerede nu at knytte en særskilt systematisk Betegnelse dertil og har valgt Navnet Carlsbergense efter det Laboratorium, hvor denne Art først blev undersøgt, og iblandt hvis væsentligste Opgaver det er at studere saadanne mikroskopiske Organismer.

Den fandtes i Hindepartikler paa Siposeurt i en Pasteursk Kolbe, der havde staaet en halv Snes Dage i Thermostaten ved c. 32° C.

8. I Fig. 54, Tavle II, har jeg afbildet nogle Exemplarer af en langstrakt, tenformet eller næsten cylindrisk, vandgraa, ubevægelig Stavbakterie, 4—10,5 μ l., med tydelig Væg. Den toleddede i a antager jeg hører herhen; dens udprægede Væg og øvrige Udseende tyde nemlig derpaa, ligesom ogsaa dens Forekomst sammen med de andre.

Skulde det vise sig, at den er en vel adskilt Art, vil jeg foreslaa at kalde den Bacterium Kochii, efter den berømte Forsker paa dette Omraade.

Den optraadte i temmelig stort Antal i en Hinde paa Overfladen af kjøbenhavnsk Hvidtøl, som havde staaet 14 Dage i Thermostaten ved c. 5° C.

9. Fig. 48, Tavle II, fremstiller en pæreformet, vandgraa Stavbakterie, 5—8 μ l., 1—2 μ t. To vare bestandig saaledes forbundne, at de berørte hinanden med deres brede Ender; de vare ubevægelige.

Muligvis har jeg ligeledes her havt en ny Art for mig, i saa Tilfælde kunde den passende benævnes Bacterium pyriforme.

Den fandtes i en slimet, gulgraa Hinde paa Overfladen af Siposeurt, der havde staaet et Par Dage i Laboratoriet.

Den i Fig. 49 afbildede Kjede hører maaske herhen; den minder dog ogsaa i sin ydre Form noget om Warming's Figur af

Bacterium Lineola, men er meget mindre og mangler det kornede Indhold, der skal være karakteristisk for den sidstnævnte.

Jeg fandt den i Carlsberg Lagerøl, som havde staaet 13 Dage i Thermostaten ved 20—23° C.

10. Bacterium fusiforme Warm.

(Hertil Tavle II. Fig. 53).

[Warming: Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier, (Videnskabl. Medd. fra naturh. Forening i Kjøbenhavn, 1875—76, p. 400, Tab. VIII, Fig. 8)].

Ret talrig i Urt, som havde staaet i et Glas dækket med Glasplade i omtrent et Aar. Vædsken var aldeles klar, men havde en meget ejendommelig syrlig Lugt.

11. Smaa Stavbakterier.

(Hertil Tavle II. Fig. 50—52").

Under denne ubestemte Betegnelse sammenfatter jeg saadanne Former som de, der ere afbildede i mine ovenfor citerede Figurer. De høre til de mindste Organismer og ere kun i meget ringe Grad kjendte; vi vide saaledes ikke, om vi her have een eller flere selvstændige Arter for os eller muligvis Udviklingstrin af flere saadanne. Skulde jeg vælge et bestemt systematisk Navn, saa maatte det blive Bacterium Termo.

Det er smaa, stavformede, i begge Ender svagt tilspidsede eller but afrundede, vandgraa, undertiden stærkt lysbrydende Legemer, 0,5—3 μ l. Ofte optræde to i Forening, og man ser da ikke sjeldent, at de svømme næsten som en Fisk; den enkelte Celle kan ogsaa bevæge sig. Jeg iagttog flere Gange, hvorledes de fore rundt i større og mindre Kredse, og at de bevægede sig som en Top eller, naar to vare forbundne i en knækket Linie, at de da ogsaa kunde dreje sig rundt om Længdeaxen. Efterat de havde bevæget sig rask paa en af de angivne Maader, standsede de ofte pludseligt og forholdt sig derpaa rolige i nogen Tid. I Fig. 52—52" er der givet et Bidrag til deres Udviklingshistorie; se Forklaring over Tavlerne. Alle de i Fig. 51 og 52 fremstillede Former synes uagtet Forskjelligheden i Henseende til Størrelsen dog at høre naturligt sammen. Rigtigst vilde det maaske derimod være allerede nu at udskille de i Fig. 50 afbildede som en særegen Art. Sidstnævnte havde nogen Lighed med smaa Exemplarer af Mycodermaarterne, men danne, saavidt jeg har kunnet iagttage,

ikke Kjeder. De stemme ret godt overens med Pasteur's Afbildninger af hans »ferment lactique«[1]), der antages at fremkalde Mælkesyregjæring. De smaa Stavbakterier, som jeg opfangede i de syrlige Dampe fra Masken, syntes at udvikle sig af lange Traade, og de dannede en Hinde, bestaaende af utallige Netværk. De udsondre Slimmasser og kunne danne typiske Zoogløaformer, der ere vandgraa, langstrakt cylindriske med kugleformede Fremragninger, rette eller bugtede; undertiden dog ogsaa som Drueklasser. De i Fig. 52 afbildede kunne affarve saavel Carlsberg Lagerøllet som Urten, saa at disse Vædsker miste deres brunladne Farve og samtidig hermed blive uklare.

De optraadte almindeligt i Øl og Urt ved forskjellige Temperaturgrader, baade i Hinderne og i Bundfaldet.

12. Micrococcus (Torulaform).

(Hertil Tavle II. Fig. 47).

[Pasteur: Études sur la bière 1876, Pl. I, No. 4].

Bevægelige Kjeder af tæt til hverandre stødende, næsten kuglerunde, vandgraa Led.

De have nogen Lighed med Mycoderma aceti og Myc. Pasteurianum, især paa det Udviklingstrin, hvor disses Led netop have halveret sig; men i det Hele synes de dog at være vel adskilte fra disse Arter. Den af Billroth[2]) beskrevne og afbildede Streptococcos fra surt Wiener-Øl stemmer vistnok overens med min Torulaform.

De fandtes ved forskjellige Temperaturgrader i Urt og Carlsberg Lagerøl og saavel i Hinderne som i Bundfaldet, men vare sjeldne.

13. Micrococcus.

(Hertil Tavle II. Fig. 45).

Former, som kunne henregnes til denne Slægt, iagttog jeg flere Gange, navnlig i Urt, der i længere Tid havde staaet i Laboratoriet. De ere, som min Afbildning viser, smaa kuglerunde Legemer af meget ringe, men forskjellig Størrelse. Ofte fandt jeg en uhyre Vrimmel deraf i zittrende Bevægelse. Det var ikke altid muligt at afgjøre, om de vare selvstændige Organismer eller kun Detritus.

---

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, Pl. I, No. 2 og Fig. 47, p. 200.

[2]) Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica, 1874. Taf. I, Fig. 10.



14. Sarcina.

(Hertil Tavle II, Fig. 46.)

(Pasteur: Études sur la bière, 1876, Pl. I, No. 7).

Det er efter al Sandsynlighed den selvsamme Form, som Pasteur har afbildet i den ovenfor citerte Figur, og hvorom han meddeler, at den giver Øllet en ejendommelig sur Smag.

Jeg har flere Gange iagttaget dem, dels i Pururt og i jydsk Landøl, som hver for sig i tilproppede, mørke Flasker stod i Laboratoriet et Par Maaneder, dels i Carlsberg Lagerøl, der i en tilproppet, hvid Flaske nogle Dage blev udsat for Sollysets Paavirkning, og hvis Indhold derved blev bragt til at raadne, og desuden i to Haarrør[1]), der vare fyldte med sidstnævnte Vædske, og som efterat være tilsmeltede laa c. 4 Maaneder i Thermostaten ved 5—6° C.

15. I Hinder paa Overfladen af Porter, Urt og Hvidtøl, der i nogle Dage havde været udsat for en Temperatur af 30—42° C., fandt jeg nogle Gange Former som de i Fig. 71, Tavle II afbildede. De laa i Grupper og havde en uregelmæssig, noget kantet Form og meget forskjellig Størrelse; de største vare hyppig 4—6 μ l. og 1—3 μ t., de mindste ikke halv saa store. Saavel deres Form som Størrelse syntes i det Mindste tildels at være betingede af Pladsen, de indtoge til hverandre; en Væg kunde iagttages, og den indesluttede i Almindelighed et grynet Protoplasma, i nogle Tilfælde 1 eller 2 stærkt lysbrydende, runde Legemer (b); de forholdt sig ubevægelige, undertiden optraadte de i korte Kjeder.

Jeg er ikke sikker paa, om de virkelig henhøre til Schizophyterne; i nogle Tilfælde forekom det mig muligt, at de maaske kunde være misdannede Celler af Saccharomyces Mycoderma, der vare fremkomne under abnorme og ugunstige Ernæringsforhold.

---

1) Salomonsen, Studier over Blodets Forraadnelse, 1877, p. 62.

II.

Oidium lactis Fres.

(Den saakaldte Mælkesyregjærsvamp).

(Hertil Tavle I. Fig. 1—19).

I Februar 1878 modtog jeg nogle Flasker jydsk Landøl (overgjæret Øl), hvori der fandtes temmelig mange Konidier af ovennævnte Art, og ved i aabne Glas at sætte Prøver ind i Thermostatens forskjellige Afdelinger opnaaede jeg en rig Vegetation. Da denne Form frembød meget Gaadefuldt og af Cienkowski omtales som almindelig paa Øl, besluttede jeg at forfølge dens Udviklingshistorie.

De fleste Meddelelser i Literaturen om den betegne den som en pleomorf Art. Saaledes omtaler f. Ex. Harz[1]), hvorledes han iagttog, at to Mikrokokkusceller, der fandtes i en fritliggende Celle af Oidium lactis, i Løbet af 12 Timer udvoxede til 4- og 6-leddede Bakterier, og i et andet Tilfælde saa han en isoleret Bakterie efter flere Ugers Forløb udvikle sig til Oidium lactis o. s. v. Cienkowski[2]) er tilbøjelig til at antage, at hans Chalara Mycoderma hører genetisk sammen med Oidium lactis, ja maaske ogsaa med Saccharomyces (Mycoderma vini Desm.). Hos Billroth[3]) finde vi en udførlig Fremstilling af, hvorledes Konidierne udvikle en Gjærcelleform; Afbildningerne og Beskrivelserne af denne vise imidlertid hen til Saccharomyces Mycoderma. Det er fuldkommen rigtigt, hvad den berømte Chirurg siger i Slutningen af sin Meddelelse, nemlig at vor Kundskab til Oidium endnu er meget mangelfuld, og at vi i den Henseende maa sætte vort Haab til Botanikerne. De betydningsfuldeste Undersøgelser skyldes de Bary[4]), Haberlandt[5]) og Brefeld[6]), og af disse antyder den førstnævnte, at Oidium lactis sikkert hører ind

---

[1]) Harz, Untersuch. über die Alkohol- und Milchsäuregährung (Zeitschr. d. allg. österr. Apotheker-Vereines 1870, und 1871).

[2]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut (Petersborg Akademiets Bulletins, T. XVII, 1873).

[3]) l. c. p. 43—45, Taf. V, Fig. 46—50.

[4]) A. de Bary, Ueber Schimmel und Hefe, p. 47. (Samml. gemeinverständl., wissenschaftl. Vorträge. 1873).

[5]) Haberlandt, Das Vorkommen und die Entwickelung der sogenannten Milchsäurehefe, (Wissenschaftl.-prakt. Unters. auf dem Gebiete des Pflanzenbaues, 1875).

[6]) Brefeld, Ueber Gährung (Landwirthschaftl. Jahrb. V B. 1876, p. 317).

i en endnu ikke fuldkommen kjendt Formkreds, om hvilken vi navnlig mangle Kundskab angaaende Kjønsorganerne og den af dem dannede Fruktifikation. Hos Haberlandt finde vi saavel i Text som i Tegning en Fremstilling af en for vor Art hidtil ikke beskreven Fruktifikationsform. Han fandt de almindelige Konidier i den nymalkede Mælk og desto flere, jo længere den havde staaet i Køernes Nærhed; heraf blev der hensat Prøver i hans Laboratorium, og han beskriver, hvorledes Myceliet af Oidium lactis forandrer sig efter en 10—14 Dages Forløb paa den Maade, at Hyferne forene sig til Knipper og danne et laaddent Overtræk, næsten som fin Uld. Deres Celler ere nu tomme eller kun sparsomt udstyrede med Protoplasmaklumper og Fedtdraaber. Tre Maaneder efter Forsøgets Begyndelse udviklede der sig af 4 Prøver iblandt 10 yderst fine, omtrent 2 Millim. lange Frugtbærere, hvis Ender vare besatte med Sporangier af hvid Farve. Det antydes, at disse Frugtbærere ere byggede af kortleddede, tæt ved hverandre liggende Hyfer, hvis Celler smelte fuldkomment sammen, og som noget Karakteristisk fremhæves det, at Frugtbærerne altid træde frem fra Spidserne af hine omtalte, uldagtige Totter. Det er noget paafaldende, at Forfatteren ikke nøjere undersøgte Bygningen. Et Mycelium, som det, der saa let iagttages baade hos Mucor og Pilobolus, var trods megen Søgen ikke til at opdage, men det syntes snarere, som om Frugtbæreren var voxet ud fra selve Totterne. Om Sporangiet siges, at det var fyldt med ægformige, vandklare Sporer, hvis Størrelse omtrent stemmede overens med Sporerne hos Mucor racemosus; dog iagttoges ingen Sporangievæg, men Sporerne syntes snarere at være indhyllede i en i Vand henflydende Slim. Udsaaningsforsøg med dem paa Mælk fik et negativt Resultat. Det var dog kun i denne Vædske, at han undertiden, men altsaa tilfældigvis, fik disse Dannelser, hvorimod alle de Kulturforsøg, som han i den Hensigt anstillede med Konidier i forskjellige andre Vædsker, uden Undtagelse mislykkedes. Haberlandt's Frugtbærer med sit Sporangium minder om en Stilbum saaledes, som denne Slægt karakteriseres i Bonorden's Haandbog; den kan maaske ogsaa, som Schröter i Botanischer Jahresbericht 1876 angiver, henføres til Coremium. For Brefeld danner Oidium lactis med sin Fruktifikation af oprindelig i Kjeder forbundne Konidier en isoleret Form, henhørende til de lavere Svampe, og maaske en af de tiloversblevne af dem, fra hvilke efter Darwins Theori de højere Former antages at have udviklet sig. Skjøndt hans Afhandling er skreven over et Aar efter Offentliggjørelsen af Haberlandt's, omtaler han dog slet ikke dennes meget afvigende Anskuelser; han synes ikke at have kjendt

dem. Det ses altsaa heraf, hvor forskjellige Meningerne ere om denne Form. Heri laa for mig en Opfordring til ved selvstændige, indtrængende Undersøgelser, og da navnlig Kulturforsøg, at prøve de givne Oplysningers Rigtighed og om muligt selv føje nye Led til vor Kundskab. I det efterfølgende gives en kort Fremstilling af de Resultater, jeg efter flere Maaneders fortsatte Arbejde opnaaede.

Konidierne ere sjældent to-, men i Reglen encellede og mer eller mindre rektangulære, men kunne dog ogsaa optræde under andre Former, f. Ex. som kuglerunde, pæredannede eller ovale, og endelig som uregelmæssigt udbugtede Legemer. De ligne undertiden Gjærceller (Fig. 5) og ere ogsaa blevne forvexlede dermed. I den unge Tilstand have de en tynd Væg, der meget vanskelig iagttages, og et Indhold bestaaende af tæt og ikke sjældent stærkt lysbrydende Protoplasma. De bleve gulbrunt farvede, saavel naar jeg lod en Draabe Jodopløsning paavirke Præparatet som ogsaa, naar jeg anbragte Jodkrystaller direkte deri; i sidste Tilfælde blev Protoplasmaet dog mere brunligt. Væggen bestaar af en eneste Membran, og denne brydes ikke itu under Spiringen, men fortsætter sig op i Spiretraadens Væg. Fra en Konidie kan der udgaa 1—4 Spiretraade, og hyppigst saaledes, at der udsendes en fra hver Ende; i de Tilfælde, hvor der fandtes fire, udsprang der en fra hver af Rektanglets fire Hjørner. Mine Dyrkningsforsøg bleve dels foretagne i fugtige Kamre under Mikroskopet, dels i Pasteurske Kolber og dels paa anden Maade. Nedenfor behandles hver Gruppe af Experimenter for sig. Hvor intet andet bemærkes, benyttedes Konidier af Vegetationer paa Urt efter den oprindelige jydske Kultur.

Dyrkningsforsøg i fugtige Kamre.

Hertil bleve anvendte Böttcher's og Ranvier's Kamre. Som Næringsvædske benyttede jeg Siposeurt, der nemlig paa Grund af sin Klarhed ypperligt egner sig hertil. Konidierne kunne dog ogsaa spire i destilleret Vand. De førstnævnte Kamre bestaa af en tykvægget Glasring, der er kittet fast paa et Objektglas og foroven ved Hjælp af en fedtagtig Masse kan lukkes aldeles med et Dækglas. Paa Bunden af dette Rum bliver der nu gydt lidt Vand for at forhindre Næringsvædskens Fordampning, og Objektet, som man agter at undersøge, anbringes paa Dækglassets underste, altsaa mod Objektglasset vendte Flade. Dette Apparat er afbildet i »Physiologische Methodik von Gscheidlen, zweite Lieferung 1876«, Pag. 248, Fig. 215, og i Pasteur's »Études sur la bière 1876«,

Pag. 153, Fig. 30. Ranvier's fugtige Kammer findes beskrevet og aftegnet af Prof. Panum i hans »Studier over Gäring og Forrådnelse, med særligt Hensyn til de mikroskopiske Organismers Andel i Fermentvirkningerne«. Nord. med. arkiv, 1878, band X, n:r 4, Pag. 42, Fig. 15 C.): »Det er tilvejebragt derved, at en flad Glasring og en lille rund Glasskive ere befæstede saaledes paa et Objektglas, at der imellem dem dannes en kredsrund Fordybning, som kan optage Vand for at forhindre Objektets Fordampning, naar et Dækglas lægges paa Ringen. Den kredsrunde Glasplade er ikke fuldt saa tyk som Glasringen, og de smaa Objekter, som i en lille Draabe anbringes paa Dækglasset lige over Glasskiven, ere derved beskyttede imod Tryk saavel som imod Udtørring ved Fordampning (naar Ringen er vædet med lidt Olie, og Fordybningen imellem Ringen og Glasskiven indeholder et Par Draaber Vand), og de ere tillige paa Grund af Haarrørsvirkningen fixerede paa deres Plads«. Foruden dette sidst omtalte Kammer anvendte jeg ogsaa en Modifikation deraf med Lufttilledningsrør. Istedetfor Olie eller Fedt benyttede jeg bestandig Vaseline til at fastkitte Dækglasset med. Dette Stof, der nylig er kommet i Handelen og til det nævnte Brug anbefalet af Grossmann og Mayerhausen (Onderzoekingen gedaan in het physiol. Laboratorium der Utrechtsche Hoogeschool 1877), bliver nemlig ikke harsk som sædvanligt Fedt, og man undgaar saaledes den hemmende Indvirkning, som Fedtsyrer pleje at udøve paa Mikroorganismernes Udvikling.

Spiringen indtraadte i de fleste Tilfælde efter 4—5 Timers Forløb. Forinden tiltage Konidierne i Rumfang, navnlig i Tykkelse; en Tiltagen i Længde iagttog jeg kun 2 Gange, og den aflæste Forøgelse beløb sig da kun til 1μ, medens Forøgelse i Tykkelse i nogle Tilfælde endog var 3μ. Nedenstaaende Tabel angiver Enkeltheder i nævnte Retning. De iagttagne Led betegnes a. b. c. d. e., og deres Maal ere nedenfor angivne. Det bemærkes, at alle Kulturforsøgene i de fugtige Kamre bleve anstillede ved Værelsets Temperatur, der om Dagen var 17—19 og om Natten c. 8^0 C.

Spiretraaden viser sig først som en lille, vorteformig Udbygning paa den spirende Konidie (Fig. 6'). I nogle Tilfælde opstaar der strax en Tværskillevæg, hvorved den udtømte, spirende Konidie afgrændses fra den fyldte Spiretraad, og de i denne udviklede Tværskillevægge have i Reglen den samme Betydning, idet Traadens yderste Parti er det, hvortil oftest alt Protoplasmaet søger, og hvor Væxten foregaar. Under Spiringen optræder der en mere eller mindre rig Vakuoledannelse. De Konidier, som laa nærmest Kulturvædskens Rand og altsaa havde rigeligst Adgang til Luftens

Ilt, spirede hurtigst og havde ofte dannet lange, grenede, Konidieled afsnørende Spiretraade, førend der endnu var indtraadt noget Tegn til Spiring hos de i Midten liggende. Det var interessant at se, med hvilken Begjærlighed Spiretraadene i de Ranvierske Kamre søgte Luften og som Radier skøde ud mod Glasskivens Rand, ja endog udenfor denne. Heraf og af andre Iagttagelser fremgaar det, at Konidierne for at kunne udvikle sig frit under Spiringen kræve en temmelig rigelig Lufttilførsel. Efter ca. 10 Timers Forløb fandtes i nogle Tilfælde Forgrening og Tværskillevægge i Spiretraadene og efter 22 Timers Forløb Ledafsnøring, hvorved Traadene i Reglen dannede Zigzaglinier og derefter opløste sig i talrige Konidier. Ved at dyrke disse gjentager den samme Udviklingsgang sig, og man vil ved Kulturer i fugtige Kamre ingensinde træffe nogen anden.

	a		b		c		d		e	
	μ l.	μ t	μ l	μ t.	μ l.	μ t.	μ l.	μ t.	μ l.	μ t.
Kl. $8^3/_4$ Form. ved Udsædens Begyndelse	22	5	15	5	15	5	17	5	17	5
Kl. 1 Efterm. En kort Spiretraad er udskudt fra hver Ende	22	7	15,5	5,5	16	8	17	6,5	17	6
Kl. $3^1/_2$ Efterm. Den er bleven større, men er endnu uforgrenet og uden Tværskillevægge	22	8	16	6	16	8	17	7	17	7
Kl. 6 Efterm. Omtrent som sidst, kun kraftigere Udvikling af Spiretraaden..	22	8	16	6	16	8	17	7	17	7

Dyrkningsforsøg i Pasteurske Kolber.

De nævnte Kolber findes afbildede i Pasteur's fornylig nævnte Bog om Øllet, pag. 29, Fig. 4, og deres Brug og Betydning omtales heri paa forskjellige Steder.

For at faa at vide, om Oidium lactis kan udvikle sig i Carlsberg Lagerøl og i Carlsberg Double Brown Stout, bleve 2 Kolber $^1/_3$ fyldte hver med sin af de omtalte Ølsorter, som de gaa i Handelen, og derefter paa Vædskens Overflade inficerede med Konidier, hvorpaa de begge hensattes i Thermostaten ved c. 33° C., der ved Experimenterne med det jydske Landøl viste sig at være en for denne

Arts Udvikling gunstig Temperatur. Samtidig hermed bleve 4 aabne Glas, hvoraf de to indeholdt førstnævnte og de to sidstnævnte Ølsort, alle inficerede paa samme Maade, og de to henstilledes derpaa i Laboratoriet, hvis Temperatur om Dagen var 17—18 og om Natten 8° C., medens de to andre, nemlig et med Lagerøllet og et med Porteren, anbragtes i Thermostaten ved c. 20° C. Efter omtrent 1 Maaneds Forløb havde der endnu ikke fundet nogen Udvikling Sted i Kolberne. Ved at undersøge de her udsaade Konidier fandtes det, at de vare blevne brunlige, og deres Vægge, som tidligere næppe vare til at skjelne, traadte nu meget tydeligt frem, medens Protoplasmaet havde trukket sig sammen i Midten som en kornet, grynet, mer eller mindre stærkt lysbrydende Masse. De frembøde kort sagt alle Tegn paa Døden. De aabne Glas, der vare hensatte i Thermostaten og Mikroskopværelset, bleve undersøgte paa den 3die og 4de Dag efter Infektionen. Der fandtes da i dem alle paa Vædskens Overflade en tynd, temmelig jævn, mørkegraa og hvidlig Hinde, hvis hele Udseende viste hen til Saccharomyces Mycoderma. Ved den mikroskopiske Prøve fandtes Hinderne i Virkeligheden fortrinsvis at være byggede af denne Art og af smaa Stavbakterier, og i de Strækninger, hvor den førstnævnte Organisme herskede, fandtes ingen Vegetation af den udsaade Oidium lactis; denne havde derimod i alle Glassene maattet indskrænke sig til nogle beskedne, af Saccharomyces Mycoderma ubenyttede, smaa Pletter op mod Glassets Rand, hvor den kjendtes paa sit hvide, melede og filtede Udseende. Paa samme Tid, som de ovenfor omtalte Forsøg anstilledes, blev der paa lignende Maade experimenteret med Siposeurt, dels i Pasteurske Kolber og dels i aabne Glas; Resultatet var i alle Tilfælde en meget rig og yppig Vegetation af de udsaade Konidier. Disse havde altsaa været fuldstændigt livskraftige. Heraf fremgaar, at Oidium lactis under de nævnte Forhold ikke eller næsten ikke udvikler sig i Carlsberg Lagerøl og i Carlsberg Double Brown Stout.

Et lignende negativt Resultat frembøde Experimenterne med Rørsukker (10 %), opløst i destilleret Vand, og tildels en Række Infektionsforsøg, hvortil jeg som Næringsvædske for de udsaade Konidier benyttede ren Humleurt, Humleurt med Tilsætning af lidt Gjær (Undergjær), sødt Dobbeltøl, Hvidtøl og Carlsberg Lagerøl samt den ovenfor nævnte Porter, dels i Pasteurske Kolber, dels i aabne Glas ved forskjellige Temperaturgrader. Kun den rene Humleurt og Hvidtøllet fostrede en kraftig Vegetation; paa Dobbeltøllet, Carlsberg Lagerøllet og Porteren fandt enten ingen Udvikling Sted

eller ogsaa kun en svag, og paa Humleurten, som var bragt i Gjæring, var der ikke Spor af nogen Væxt.

Disse Experimenter viste, at Oidium lactis vel til Nød kan voxe paa de tre sidstnævnte Ølsorter, men at de danne en mindre gunstig Næringsbund for den. Af denne Aarsag vil den heller ikke her kunne udholde Kampen med de andre Organismer, der pleje at indfinde sig. Erindres det, at der kun fandt en kraftig Udvikling Sted paa den alkoholfrie Urt og paa Hvidtøllet, saa ligger det nær at søge Grunden til de angivne Differenser i den større eller ringere Mængde tilstedeværende Alkohol. I Carlsberg Lagerøl er Forholdet ogsaa mellem den indeholdte Vinaand og Extrakt omtrent som $^4/_5$, i Porteren som $^4/_9$, i det anvendte Dobbeltøl som $^2/_{16}$, i det anvendte Hvidtøl som $^1/_9$ og i Urten som $^0/_{13}$. Aarsagen til, at Oidium lactis ikke kan udvikle sig paa den gjærende Urt, maa ikke blot søges deri, at der under Gjæringen bestandigt dannes Alkohol, men vistnok i en endnu højere Grad deri, at der udskilles Kulsyre. Ved senere at foretage Udsæd fra Mælk paa Urt og paa undergjærede Ølsorter indeholdende en nogenlunde lignende Alkoholmængde som Carlsberg Lagerøl optraadte der kun paa Urten en kraftig Vegetation og paa Øllet enten slet ingen eller kun en meget svag. Nogenlunde alkoholrige Vædsker ville i Følge Ovenstaaende altsaa neppe være udsatte for denne Organismes Angreb. Det fortjener ogsaa her at bemærkes, at den overhovedet ikke synes meget tilbøjelig til en spontan Optræden i Øl og Ølurt; der fremkom saaledes i den lange Tid, som jeg anvendte til Experimenter med den, aldrig her i Laboratoriet nogen Vegetation af den uden i de Tilfælde, hvor jeg selv havde udsaat den, endog ikke en Gang da, naar jeg stillede inficerede, aabne Glas, indeholdende Urt, ved Siden af lignende, men ikke inficerede.

Samtidig med at jeg paa den angivne Maade søgte Svar paa mit Spørgsmaal om Forekomsten af Oidium lactis, havde jeg uafbrudt min Opmærksomhed henvendt paa en mulig tilstedeværende og af saa mange ansete Forskere erkjendt Pleomorfisme; men trods al Søgen fandtes Intet, som med Sikkerhed kunde tyde derpaa. Hermed lod jeg dog ikke Sagen falde. Renkulturer i Pasteurske Kolber, væsentlig efter den af Pasteur l. c. p. 84 o. flg. beskrevne Methode, bleve den Vej, ad hvilken jeg ogsaa haabede at faa dette Spørgsmaal besvaret. Som Næringsvædske benyttede jeg kogt og derved steriliseret Humleurt, hvortil jeg i de første Kulturer satte lidt Karbolsyre. Den saaledes behandlede Vædske blev derpaa inficeret med Konidier fra den reneste Vegetation, som jeg havde, og den af Pasteur anbefalede Forsigtighed anvendt

herved. Kolben indsattes derpaa i Thermostaten ved en lav Temperatur. Ved fortsatte Forsøg opnaade jeg paa denne Maade tilsidst en fuldstændig Renkultur, hvorfra jeg tog Konidier til Udsæd i Humleurt uden den omtalte Tilsætning af Karbolsyre. Jeg erholdt da bestandig her en rig, yppig Vegetation af Oidium lactis, men og kun af denne Art, uden nogetsomhelst Spor af Bakterier, Saccharomyces Mycoderma, Saccharomyces cerevisiæ, Penicillium eller overhovedet af fremmede Organismer. Disse Forsøg fik altsaa samme Udfald som Kulturerne i de fugtige Kamre.

Dyrkningsforsøg paa Exkrementer, Gulerodsskiver, Mælk o. s. v.

I det Foregaaende har jeg berørt, hvorledes de allerfleste Forskere, som have ydet Bidrag til den her omhandlede Organismes Naturhistorie, betragte den som en pleomorf Art med forskjelligartet Fruktifikation, og at Haberlandt fornylig i sit udførlige Arbejde giver denne almindelige Opfattelse Støtte ved sin mærkelige Meddelelse om en ny, til Oidium lactis hørende Sporangieform. Mine Kulturforsøg saavel i de fugtige Kamre som i Pasteurske Kolber have i ingensomhelst Retning givet denne Opfattelse Medhold, men vise tvertimod hen til, at Oidium lactis er en enestaaende Form uden nogen anden Fruktifikation end den beskrevne Konidieafsnøring. Det var jo dog imidlertid muligt, at den paa en Næringsbund, forskjellig fra den hidtil af mig benyttede, kunde optræde i en ny Skikkelse og udvikle sig paa anden Maade. I. de Seynes's og Reess's smukke Opdagelse af Askosporerne hos Slægten Saccharomyces maatte i Forening med Haberlandt's Meddelelse lede min Tanke hen derpaa som paa en Mulighed, hvilken jeg under alle Omstændigheder burde prøve. Jeg udsaade derfor spiredygtige Konidier paa udkogte Gulerodsskiver og andet Næringssubstrat, som anbragtes under en Glasklokke, hvor jeg vedligeholdt en jævn Fugtighed, og i de fleste Tilfælde behandlede jeg navnlig Skiverne saaledes, at jeg ikke blot undgik Skimmeldannelse, men ogsaa en altfor yppig Udvikling af Bakterier. Alle disse og de følgende Experimenter bleve anstillede i Laboratoriet, hvis Temperatur om Dagen var 17—19 og om Natten 7—13° C. Iblandt de talrige Optegnelser desangaaende, som min Dagbog indeholder, skal jeg her kun give et kortfattet Udvalg som Exempel.

1. 22de Februar. Konidier udsaade paa udkogte Gulerodsskiver. 23de. Der er dannet smaa, hvide Puder, og flere af Konidierne have spiret paa sædvanlig Vis. 1ste Marts. Stærkere

Udvikling, men ellers som tidligere. 19de. Ingen kjendelig Forandring; Kulturen standses.

2. 4de April. Konidier bleve udrørte i Vand og derpaa udsaade paa raa Gulerodsskiver. 10de. Meget svag, men normal Vegetation. 26de. Omtrent som sidst; Kulturen standses.

3. 4de April. Konidier bleve paa samme Maade som i det foregaaende Tilfælde udsaade paa frisk Kogjødning. 29de. Ingen Udvikling; Kulturen standses. I et andet Kulturforsøg, hvor der ligeledes blev benyttet frisk Kogjødning som Næringssubstrat, indtraadte der vel efter et Par Dages Forløb en svag og normal Vegetation, men den sygnede snart hen.

4. 27de Februar. Konidier bleve udsaade paa frisk Hestegjødning. 2den Marts. Der findes flere smaa lysegraa, filtede Tuer med en svag, men i det Hele normal Vegetation. 5te. Kulturen standses paa Grund af Skimmeldannelse.

Lignende Resultater gave andre Forsøg med de to nævnte Slags Gjødning, der følgelig i meget ringe Grad synes at egne sig som Næringsbund for vor Art, og efter det fleraarige Kjendskab, jeg har til Fungi fimicoli, kan jeg slet ikke samstemme med Haberlandt, naar han i sin nævnte Afhandling siger, at den almindelig optræder paa Exkrementer af alle vore Husdyr, og at man f. Ex. kun behøver at lade Kogjødning blive liggende en kort Tid i Stalden for da at se, hvorledes der endog allerede efter 10—24 Timers Forløb dannes et hvidligt Lag af Oidium lactis derpaa. De almindelige Skimmelsvampe indfinde sig derimod med største Lethed. Gunstigere Næringssubstrat end de to nævnte Husdyrs Exkrementer er Menneskets.

5. 27de Februar. Udsæd paa kogt Rugbrød. 28de. Der har dannet sig smaa, hvide Bulke og tynde Lag af lignende Beskaffenhed over den største Del af det benyttede Brøds Overflade. 19de Marts. En stærkt udviklet normal Vegetation findes; Kulturen standses.

Lignende Udsæd paa Afkog af Gulerod, Hestegjødning og flere Frugtsafter gave i de Tilfælde, hvor Udviklingen indtraadte, en normal Vegetation.

Det var jo imidlertid tænkeligt, at en muligvis tilstedeværende ny Fruktifikationsform først kunde indtræde efter talrige Generationer af den sædvanlige med Konidieafsnøring. Jeg sørgede derfor bestandig for at have en rig Udvikling, idet jeg efterhaanden overførte Konidier fra den sidst erholdte Vegetation i frisk Urt. Paa denne Maade fik jeg vel tilsidst en stor Række Glas, inde-

holdende den nævnte Næringsvædske, inficerede med stærkt udviklede Vegetationer af Oidium lactis; men der optraadte i intet Tilfælde andre Fruktifikationsformer end den sædvanlige. Lignende Experimenter foretog jeg med Mælk som Næringsvædske, idet jeg til Udsæd benyttede dels den spontant paa Mælken i Stalden optraadte Vegetation og dels Konidier fra et af mine Glas med Urt. Resultatet blev imidlertid bestandig det samme. Og dette var ogsaa Tilfældet med de paa lignende Maade gjennem flere Led anstillede Forsøg, hvor Gulerodsskiver og Exkrementer samt Brød bleve benyttede som Næringsbund. Her gjorde jeg dog en interessant Iagttagelse, idet jeg blev opmærksom paa, hvorledes en iøvrigt normal Vegetation af vor Art, efter i nogen Tid at være kultiveret paa en af de sidst omtalte Næringssubstrater, optraadte med et fra det Sædvanlige aldeles afvigende Udseende, saaledes at der i Stedet for et laaddent, filtet Lag hu traadte særegne kegledannede Legemer frem. Som Exempel paa disse gjennem flere Led fortsatte Dyrkningsforsøg skal jeg her tillade mig at omtale et.

Fra Kulturforsøget 1, hvor kogte Gulerodsskiver bleve benyttede som Næringsbund, blev der den 3die Marts taget Konidier, hvilke derpaa bleve udsaade paa en ny kogt Gulerodsskive, hvad jeg har kaldt Udsæd i 2det Led. 5te Marts fandtes store, hvide Puder. 6te. Vegetationen har bredet sig betydeligt videre som et hvidligt Lag og bestaar nu ikke blot af de bløde, hvidlige Puder, men tillige navnlig i Periferien af mer eller mindre kegleformede Legemer, der oftest ere forholdsvis tykke ved Grunden og foroven temmelig tilspidsede (Fig. 8). De ses tydeligt med blotte Øjne og ere dannede af i det Hele normale Hyfer, tilhørende Oidium lactis; kun syntes disse for det Meste at være tykkere end sædvanligt og frembøde ofte det Forhold, at Konidierne vare adskilte ved større eller mindre Mellemrum, idet de nemlig ikke dannedes i et Parti af Traaden som en fortløbende Kjede, men derimod spredte i flere (Fig. 15—16). Hyfernes Vægge vare ofte brunladne med et inkrusterende Lag, der forsvandt ved Tilsætning af Klorbrinte. 19de. De omtalte kegledannede Legemers Antal er tiltaget i en meget høj Grad; de ere gulladne, glatte og have ikke sjeldent mørkere Spidser. 12te Marts bleve Konidier fra ovennævnte Vegetation udsaade paa en ny kogt Gulerodsskive, altsaa Udsæd i 3die Led; men først i April, i en Udsæd i 5te Led, ligeledes paa kogte Gulerodsskiver, optraadte disse kegledannede Legemer igjen, nemlig 6 Dage efterat Konidierne fra den nærmest foregaaende Vegetation vare blevne udsaade.

Skiven fandtes da overalt bedækket med en hvidlig, gulladen Skov af mere eller mindre kegleformede Legemer, hvis Størrelseforhold og Form iøvrigt var meget forskjellig (Fig. 9). Undertiden var Spidsen krogformet ombøjet (a) undertiden kløvet i flere Grene, (c, d) og ikke sjeldent havde to af de omtalte Legemer forenet sig ved Anastomose (f). De vare dels besatte med enkeltstaaende, fine Haar, dels med en tæt, hvid Filt, der i enkelte Tilfælde var indskrænket til Spidsen, hvor den dannede ligesom en Fjerbusk (g). Imellem disse Legemer fandtes svagt glindsende, lidt slimede, hvidlige Foldninger (h), hvorfra Anlæggene til de kegledannede Legemer hævede sig som smaa Vorter. Sidstnævnte og de omtalte Foldninger overhovedet bestaa væsenligt af grenede, farveløse, septerede Hyfer, der som et Mycelium trænge ned i Næringssubstratet. Enkelte Kjeder af Konidier findes dog ogsaa. De kegleformede Legemer ere forneden dannede af et lignende Mycelium, men foroven af i det Hele parallele, ved Siden af hverandre, liggende Konidiekjeder, der meget let aldeles opløses i særskilte Led. Haar- og Filtbeklædningen er bygget af lignende Kjeder. Alle Cellerne se ud til at være unge. Efter nogle Dages Forløb forsvandt den omtalte Haar- og Filtbeklædning, og Legemerne vare nu gulgraa og temmelig glatte, 1—1,5 Millim. høje. Paa Menneskeexkrementer og paa usyret Brød, som havde en passende Fugtighed, optraadte de med stor Lethed og i Almindelighed allerede efter den første Udsæd. Deres Udseende er som oftest meget forskjelligt fra det, en gammel Vegetation paa Mælk frembyder, hvilken først er beskreven af Haberlandt. I intet Tilfælde kunne de betragtes som et nyt Led i en Generationsvexel, men have blot erholdt et fra det Sædvanlige mere eller mindre afvigende Udseende paa Grund af det særegne Næringssubstrat; d. v. s. efter de forskjelligt ydre Betingelser kan Vegetationen af Oidium lactis erholde noget forskjellig Habitus uden dog derfor at gaa over til en ny Fruktifikationsform. De af mig her skildrede Forhold minde om, hvad der hyppigt finder Sted hos Vandplanter, der som f. Ex. Batrachium heterophyllum og Polygonum amphibium kunne antage et temmelig forskjelligt Udseende, eftersom de voxe helt ude i Vandet, nær Land eller oppe paa Skraaningen. Større Lighed frembyde de dog med Zoogløadannelserne og da navnlig med saadanne, som Cienkowski[1]) i den nyeste Tid har afbildet.

[1]) Cienkowski, Zur Morphologie der Bacterien, 1877, Tab. I, Fig. 19 (Mémoires de l'Acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg, VII S. T. XXV.).

Det vil være de fleste af Læserne bekjendt, hvorledes Brefeld for nogle Aar siden var saa heldig at opdage Sklerotierne til Penicillium glaucum. Han opnaade dette ved at dyrke de spirende Konidier under saadanne Forhold, at de kun havde ringe Adgang til Luftens Ilt. I Stedet for at udvikle en yppig Fruktifikation med rig Konidiedannelse frembragte de nu et helt nyt Formeringsorgan, nemlig Sclerotium med Askosporer. Disse smukke Experimenter vare mig naturligvis i frisk Minde, og jeg maatte da let falde paa at prøve, om jeg ikke ved at give mine spirende Konidier mere eller mindre sparsom Adgang til Atmosfærens Ilt kunde bringe dem til at danne en anden Fruktifikation end den hidtil kjendte. Jeg tog fat med Iver herpaa og varierede Forsøgene efter en stor Maalestok; dog blev Resultatet bestandigt det samme, nemlig det, at vor Art under alle Omstændigheder kun dannede en eneste Slags Formeringsorganer, d. v. s. de almindelig bekjendte Konidier. Disse sidst omtalte Forsøg bleve dels anstillede med usyret Brød, dels med Gulerodsskiver, med Exkrementer og med Urt. I alle Tilfælde, med Undtagelse af det sidste, optraadte de foran omtalte kegledannede Legemer, og navnlig i yppig Udvikling paa de benyttede Menneskeexkrementer. Her havde de imidlertid, ligesom Vegetationen overhovedet, en smudsigt gulgraa Farve. Altsaa ogsaa i dette Tilfælde blev Spørgsmaalet om den muligvis tilstedeværende Pleomorfisme besvaret paa samme Maade som i de foregaaende.

Det vil erindres, at jeg for første Gang erholdt Oidium lactis i jydsk Landøl; den her opstaaede Vegetation propagerede jeg uafbrudt i Urt, saa at jeg til enhver Tid havde spiredygtige Konidier til min Raadighed, nedstammende direkte fra dem, der oprindeligt havde været tilstede i det omtalte Øl. Dette fik jeg en Art Garanti for deri, at Oidium lactis, som berørt, ingensinde i Laboratoriet, medens jeg anstillede mine talrige Experimenter, optraadte i andre Glas end dem, der vare blevne inficerede dermed. Til sammenlignende Undersøgelser forskaffede jeg mig samme Art fra Mælk, paa hvis Overflade den som bekjendt efter kort Tids Forløb næsten altid indfinder sig. Det var ikke muligt ved Mikroskopets Hjælp at opdage nogen Forskjel. Dette udelukkede dog ikke, at de tilsyneladende ensartede Former fra de to forskjellige Næringssubstrater kunde frembyde fysiologiske Differenser i Lighed med, hvad vi f. Ex. have set hos Bacillerne. Jeg stillede da Spørgsmaalene i to Retninger, nemlig om min Oidium lactis fra Øllet og Urten kunde udvikle en normal Vegetation paa Mælk, og om Koni-

dier tagne fra den paa Mælken udviklede Form kunde give normal Vegetation paa de førstnævnte Vædsker.

Paa nymalket Mælk, der havde staaet nogle Dage i Stalden, optraadte der to runde Pletter, dannede af et grenet, septeret, stærkt udviklet Mycelium af bemeldte Art. Konidiedannelsen var i de fleste Tilfælde endnu ikke begyndt. Hermed inficerede jeg Urt, og for Sammenlignings Skyld blev ikke inficeret Urt stillet ved Siden af førstnævnte. 5 Dage senere havde der i det inficerede Glas dannet sig en tyk Hinde, bestaaende af vor Art, som derimod slet ikke fandtes i det ikke inficerede Glas. Heraf havde jeg Grund til at slutte, at Vegetationen paa Urten maatte skyldes Udsæden af Konidierne fra Mælken, og da denne Vegetation i alle Retninger frembød samme Udseende og Karakter som Mælkens, saa fulgte heraf atter, at de under Navnet Oidium lactis fra Mælk og Urt beskrevne Former i Virkeligheden høre til samme Art. For større Sikkerheds Skyld fyldte jeg endvidere to Pasteurske Kolber hver $^2/_3$ med skummet Mælk, som jeg derpaa kogte. Den ene blev nu inficeret med Oidium lactis fra min oprindelige Ølkultur og hensat i Laboratoriet, medens den anden upaavirket efter Kogningen blev stillet ved Siden deraf. Efter et Par Dages Forløb viste der sig, som jeg ventede, en rig Vegetation i den førstnævnte Kolbe, medens den ikke inficerede forblev uforandret. Dette er et tydeligt Tegn paa, at den erholdte Vegetation skyldtes de udsaade Konidier. Disse Experimenter bleve gjentagne, ikke blot med Urt og Mælk, men tillige med Hvidtøl, og gave bestandig samme Resultat, hvoraf følger, at de som Oidium lactis beskrevne Former saavel kunne udvikle sig paa Ølvædsker som ogsaa paa Mælk, og da man hverken fra Udviklingshistorien eller ved den nøjagtigste mikroskopiske Undersøgelse kan paavise Differenser mellem de her omhandlede Former, saa maa de ifølge alt Dette betragtes som henhørende til en og samme Art, og vort Spørgsmaal hermed besvaret.

Af Cienkowski's Afhandling havde jeg lært, at der udvikler sig en Hinde med Oidium lactis paa Overfladen af Vand, hvori man lader Plantedele, navnlig Stykker af Rødder, raadne. Ved at gjentage dette, opnaade jeg ogsaa at faa Hinder, dannede foruden af Bakterier tillige af Saccharomyces Mycoderma, Chalara Mycoderma og den her behandlede Art. For at undgaa en mulig Infektion fra Laboratoriet anstillede jeg disse Forsøg i en hel anden Bygning, nemlig i Kjelderlejligheden paa Valbjerg. I den mikroskopiske Prøve viste den her tilstedeværende Oidium lactis sig i ingen Retning forskjellig fra den forhen beskrevne, og ved at overføre den paa Humleurt, Hvidtøl og Carlsberg Lagerøl opnaade

jeg i Overeensstemmelse med tidligere Erfaring en kraftig, normal Vegetation paa de to førstnævnte Vædsker, medens den derimod slet ikke udviklede sig paa Lagerøllet. Alt dette tyder paa, at ogsaa Formerne fra Planteinfusioners Hinder høre til samme Art som de, der optræde paa Mælk og Ølvædsker.

For yderligere at prøve Rigtigheden af Haberlandt's formentlige Opdagelse gjentog jeg hans Experimenter. Efterat den henstillede Mælk med sin Oidium-Vegetation var bleven gammel, frembød sidstnævnte vel i Reglen det laadne Udseende, som Forfatteren beskriver, men der optraadte ingensinde nye Fruktifikationsorganer; derimod ikke sjeldent Mucorsporangier saaledes, at man vel kunde fristes til at tro, at de vare en Udvikling af det nedenunder værende Oidiumlag og altsaa stode i levende Forbindelse dermed. Ved at foretage en omhyggelig Præparation og mikroskopisk Undersøgelse lykkedes det dog med Sikkerhed at erkjende, at de to Former ikke stode i levende Forbindelse med hinanden, og ved at udsaa Sporangiets Sporer blev Svaret det samme. Renkulturer i Pasteurske Kolber gave ligeledes aldrig Andet end Oidium lactis, selv om Mælken deri blev flere Maaneder gammel. Haberlandt's Frugtbærere med deres Sporangier minde vel noget om en Mucor, men dog i endnu højere Grad om Former henhørende til Slægterne Coremium og Stilbum, navnlig sidstnævnte, og jeg maa efter den gjennem mangfoldige Experimenter og omhyggelig Undersøgelse indvundne Erfaring slutte, at Haberlandt har taget fejl. Det er ogsaa paafaldende, at han ikke giver os nogen tydelig Besked om Bygningen af denne Frugtbærer med sit Sporangium, og at han, efterat Udsaaningsforsøgene paa Mælk vare mislykkede, ikke prøvede andre Næringssubstrater; men navnlig paafaldende er den Utydelighed, der hviler over hele hans Beskrivelse. Som et Led i hans egen Fremstilling, der ligeledes taler imod Rigtigheden af hans Iagttagelse, kan ogsaa anføres dette, at han selv siger, at de omtalte Frugtbærere med deres Sporangier kun udviklede sig i 4 af 10 udsatte Prøver. Hertil kan jeg endvidere føje, at jeg paa en kogt Gulerodsskive, hvorpaa der havde været dyrket Oidium lactis i længere Tid, iagttog nogle smaa Former af Slægten Stilbum (Bonorden's Haandb., p. 137), hvis Stilk var hvid, filtet og temmelig tynd, og Hovedet ovalt, rødligt, klæbrigt, glindsende, med talrige, smaa, runde Sporer. De mindede ikke lidet om Haberlandt's meget omtalte Former og indtoge en Stilling til Oidium-Vegetationen, som var vel skikket til at lede paa Vildspor. Sporerne spirede med Lethed i Vand og i Urt, men udviklede ingensinde Oidium lactis.

Cienkowski, der som ovenfor antydet, nærmest slutter sig til dem, der opfatte Oidium lactis som en pleomorf Art, udtaler sig saaledes i Slutningen af sin Afhandling: »Ved mine Iagttagelser søgte jeg at udvide den snevre Kreds, som Reess har draget om Saccharomycesarterne. Det bliver i Øjeblikket et aabent Spørgsmaal, om man maa slutte denne Kreds med Endosporerne, eller om man skal udvide den videre ved at optage Oidium lactis og navnlig Chalara deri. Der er Tilfælde, som tyde paa Sammenhæng mellem Chalara og Oidium. Naar man lader begge Svampe voxe under Dækglas i fugtig Luft og kun giver dem et Minimum af Vædske, saa finder man undertiden, at Oidiumhyferne pludselig skyde ud i en tynd, meget lang Dannelse, der i Spidsen bærer en lille Knap, som Tilfældet er med Chalara (Tab. II, Fig. 62). — Til Gunst for den Opfattelse, at de sidstnævnte Svampe høre sammen, taler endnu en Omstændighed; man finder nemlig, om end meget sjeldent, Chalaragrene, der ere saa fast og inderligt forbundne med Oidiumkonidier, som om de ligefrem vare udvoxede af disse.«

Da disse Antydninger og usikre Bemærkninger ere fremkomne fra en betydelig Forsker og ikke blot ere Tankespind, men tildels støttes af Iagttagelser, saa kunne de her ikke godt forbigaas i Taushed. Jeg skal da først henvise til de Resultater, som bleve indvundne ved de i det Foregaaende omtalte talrige Kulturforsøg, Resultater, der alle tale imod Cienkowski's Opfattelse, og endvidere fremhæve, at Renkulturer af Sacch. Mycoderma aldrig gave Andet end denne Art. De runde, knapformede Led, som Cienkowski omtaler at have set hos Oidium lactis, og som bevægede ham til at antage, at der muligvis kunde være en genetisk Forbindelse tilstede imellem denne Form og hans Chalara, ere slet intet sjældent Fænomen, og de kunne fremkaldes i Kulturer med utilstrækkelige Ernæringsvilkaar. De ere hverken mere eller mindre end en af de talrige abnorme Dannelser, der opstaa under abnorme Forhold, og jeg har selv ofte iagttaget og fremkaldt saavel disse som andre Misdannelser (Fig. 11—14). Forsaavidt de ere spiredygtige, udvikle de Oidium lactis og kun denne.

Til de abnorme Dannelser kunne ogsaa henregnes de interstitielle Konidier, som under ugunstige Ernæringsforhold ofte fremkomme (Fig. 15—16). Haberlandt, som først har omtalt dem, siger, at de kun iagttages hos neddykkede Hyfer; men jeg fandt dem, som ovenfor angivet, hvor Vegetationen havde trange Vilkaar, saaledes f. Ex. ogsaa i de kegledannede Legemer, hvilke jeg var saa heldig at fremkalde i mine Kulturer. De bestaa, som de citerede Figurer

vise, af Celler, der ere fyldte med Protoplasma, medens de tilgrændsende ere mere eller mindre udtømte. Fra disse adskille de sig desuden derved, at de ere kortere men tykkere; de have iøvrigt de almindelige Konidiers Udseende, og det Ejendommelige for dem bestaar kun deri, at de optræde spredte paa forskjellige Steder i den traadformede Hyfe, ogsaa i dennes Midte, dels enkeltvis, dels nogle faa sammenkjedede. I saadanne Hyfer vil man da f. Ex. kunne se, hvorledes en kort, protoplasmafyldt og stærkt lysbrydende Celle i begge Ender begrændses af meget langstrakte, cylindriske og tomme Celler. Disse interstitielle Dannelser optræde med forskjelligt Mellemrum i Hyfen, og det er ikke muligt at se nogen Orden eller Plan i deres Anlæg. Hvad jeg i det Foregaaende har sagt om ugunstige Ernæringsvilkaars Indflydelse, tyder paa, at de ogsaa kunne optræde med uregelmæssige, barokke Former, og de stemme i denne Retning virkelig overens med de almindelige Konidier. De minde meget om Klamydosporerne, »Gemmen«, »Brutzellen«, hos Mucor racemosus. Disse optræde nemlig ogsaa i Myceliet, naar det kun sparsomt ernæres, og der viser sig da ligeledes i dets Hyfer kortere, tykkere, protoplasmarigere Celler afvexlende med meget lange, tyndere og tomme. Ligesom hos Oidium lactis ere ogsaa disse protoplasmafyldte Celler forplantningsdygtige, hvilket derimod regelmæssigt ikke er Tilfældet med de langstrakte, tømte Celler. Med Hensyn til Spiringen og Spiretraadens fortsatte Udvikling hos de interstitielle Konidier af Oidium lactis er der intet Særligt at bemærke, idet nemlig Udviklingen foregaar her som hos de almindelige Konidier.

Mælk er det Substrat, hvorpaa Oidium lactis hyppigst optræder, og man vil næsten aldrig forgjæves søge den paa Mælk, som har staaet nogle Dage ved sædvanlig Stuetemperatur. Paa Grund heraf har ogsaa Fresenius givet den Artsnavnet lactis. Den Mælk, hvorpaa den findes, er altid sur, og man gav den længe Skylden herfor, idet man betegnede den som Mælkesyrefermentet. Jeg kan imidlertid bekræfte Rigtigheden af Haberlandt's Iagttagelser, nemlig, at Mælkesukkerets Omdannelse til Mælkesyre foregaar uden Tilstedeværelsen af Oidium lactis. Hvilke kemiske Omsætninger den overhovedet fremkalder, skal jeg ikke her indlade mig paa at drøfte. Cienkowski omtaler den som meget almindelig paa forskjellige organiske Vædsker (Vin, Øl, Mælk, Frugtsafter, Surkaal, Agurkesaft, Rodinfusioner o. desl.), hvor den i Forening med Sacch. Mycoderma siges at danne den væsentligste Bestanddel af de tynde Hinder (»Kahmhaut«), som

optræde paa disse Vædskers Overflade. For Øllets Vedkommende har jeg, som ovenfor angivet, ikke fundet dette bekræftet, og Haberlandt's Meddelelser om dens almindelige Forekomst paa Exkrementer af alle vore Husdyr er ejheller fuldstændig rigtig. Mælk er det eneste Substrat, hvorpaa den i Virkeligheden næsten bestandig findes. I denne og andre Næringsvædsker, hvor den lever, udsender den nedadtil sine grenede, septerede Hyfer lig et Mycelium, medens de ovenfor Overfladen værende Grene strække sig i Vejret og i en større eller mindre Del af deres Længde dele sig ved Tværskillevægge i Konidier, der derpaa snart begynde at skilles ad, saa at Kjeden først faar flere Knæk og endelig tilsidst opløses, idet de enkelte Led falde fra hverandre. Ogsaa neddykkede Grene kunne, som Kulturerne i de fugtige Kamre have vist, danne Konidier, og der er i Virkeligheden her ikke nogen morfologisk Modsætning mellem konidiedannende og myceliedannende Hyfer. Den udvikler sig med stor Hurtighed, naar Næringsbunden og Temperaturen ere gunstige for den. Udsaas f. Ex. kun nogle faa Konidier paa Hvidtøl med en ringe Alkoholmængde eller paa Urt i aabne Glas, og sættes Kulturerne derefter ind i Thermostaten ved c. 32° C., saa ville Vædskernes Overflade allerede i Løbet af een Dag være bedækkede med en Hinde. Denne ligner vel noget den, der dannes af Saccharomyces Mycoderma, men adskiller sig dog fra denne ved sit melede, filtede Udseende, hvilket hidrører fra de afsnørede Konidier; den er ogsaa hvidere af Farve og har overhovedet et saa karakteristisk Præg, at man, naar Forskjellen en Gang er falden i Øinene, endog uden Forstørrelsesglas vil kunne erkjende den og ikke tage fejl. Dette gjælder forøvrigt ligeledes om de Hinder, som fornemlig ere dannede af Saccharomyces Mycoderma, Mycoderma aceti eller af de smaa Stavbakterier; hver har sit særegne Udseende. Som gunstig Temperatur for Oidium lactis kan angives 19—33° C., navnlig de højere Varmegrader omkring 30° C. Hinderne ere vel hyppigst hvide, men de kunne ogsaa optage Farvestof fra Næringsbunden; saaledes fik jeg f. Ex. flere Gange en smuk rosenrød Hinde paa rød Appelsinsaft. Under den hurtige, kraftige Udvikling finder der her som hos andre Svampe en stærk Udsondring af Vand Sted; Pasteur fremhæver dette for Sacch. Mycodermas Vedkommende.

Væxten foregaar ved Spidsevæxt, og der optræder ikke sjeldent Diko- og Trikotomi (Fig. 1—2). I Reglen dannes Sidegrenene derved, at en Celle ligeunder Tværskillevæggen udskyder den nye Gren. Dette er dog ikke, saaledes som Brefeld angiver, en Regel, hvorfra der ikke gives Undtagelser, hvilket ses af Fig. 12—13,

hvor der i det ene Tilfælde (Fig. 12) saavel umiddelbart ovenover som nedenunder en Skillevæg har udviklet sig Grene, og i det andet Tilfælde (Fig. 13) er der fra den primære Gren udskudt en sekundær saaledes, at den nærmeste Tværskillevæg ikke findes ovenover, men nedenunder dens Udspring. I begge disse fra det Sædvanlige afvigende Tilfælde udvikle de sidst omtalte Grene sig i en Retning, der er modsat den, hvori de øvrige have udviklet sig, og Tværskillevæggen, i hvis umiddelbare Nærhed de udspringe, vil saaledes i Forhold til vedkommende Grens Spids indtage den samme Stilling som til de normale. Set fra dette Synspunkt er altsaa Reglen ikke brudt; men herpaa har Brefeld dog ikke tænkt.

De vigtigste Resultater af den foregaaende Undersøgelse kunne sammenfattes i følgende Punkter:

1. Oidium lactis optræder hyppigst paa Mælk og er her saare almindelig.
2. Paa Ølurt giver den ligeledes en yppig Vegetation. Den findes vel ogsaa paa Øl, men efterhaanden som dets Alkoholmængde tager til, bliver det en mindre god Næringsbund, og for de paa Vinaand rigere Ølsorter vil der ikke være nogen Grund til at frygte for dens Angreb.
3. Meddelelserne om dens almindelige Forekomst paa Exkrementer ere urigtige, og disse kunne ingenlunde betragtes som dens egentlige Næringsbund, hvorfra den udbredes.
4. Hverken Øl eller Ølurt ere i højere Grad udsatte for at blive inficerede af dens Konidier, hvis disse ikke ligefrem udsaas deri. De smaa Stavbakterier, Mycoderma aceti og Saccharomyces Mycoderma indfinde sig derimod med den største Lethed, og overfor disse Medbejlere vil den i en alkoholrigere Ølvædske, f. Ex. Carlsberg Lagerøl, slet ikke kunne optage Kampen.
5. Ved Konidiernes Spiring udvikles efterhaanden i Almindelighed grenede Hyfer, hvis i Næringssubstratet nedsænkede Del danne ligesom et Mycelium, medens de opadvoxende Hyfer afsnøre Konidier. En morfologisk Modsætning imellem konidiedannende og myceliedannende Hyfer findes dog ikke.
6. Saavel paa flydende som paa fastere Næringssubstrater af forskjellig Art og med mere eller mindre rigelig Adgang til Luftens Ilt gjentager denne Udvikling sig, og jeg fandt ingensinde en anden Fruktifikationsform end den omtalte.
7. Haberlandt's Meddelelse om Opdagelsen af en Sporangieform, der skulde høre til Oidium lactis, beror aabenbart paa en Vildfarelse; de af ham beskrevne Sporangier maa nærmest

henføres til Slægten Stilbum og ere efter al Sandsynlighed en fremmed Indblanding af samme Art som den, jeg selv nogle Gange iagttog.

8. De runde, knapformede Led, som Cienkowski omtaler at have set, og som bevægede ham til at antage, at der muligvis kunde være en genetisk Forbindelse til Stede imellem Oidium lactis og hans Chalara Mycoderma, ere abnorme Dannelser, som kunne fremkaldes i Kulturer med utilstrækkelige Ernæringsvilkaar; forsaavidt de ere spiredygtige, udvikle de Oidium lactis og kun denne.
9. I Henseende til Habitus kan Vegetationen undergaa endog meget paafaldende Forandringer, betingede af Næringsbundens ejendommelige Beskaffenhed. Et interessant Exempel herpaa ere de kegledannede Legemer, som f. Ex. udvikle sig paa Gulerodsskiver, usyret Brød og Menneskeexkrementer.
10. Grenene udspringe vel i Almindelighed, som Brefeld fremstiller det, nedenfor Tværskillevæggene; men denne Regel er dog ikke uden Undtagelse.

III.

Rødfarvede Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler.

(Hertil Tavle II. Fig. 1—44).

Medens jeg foretog de i det Foregaaende omhandlede Undersøgelser over Luftens Organismer, var jeg i Juli 1878 saa heldig at erholde en rødfarvet Gjærsvamp i en af de aabne Kogeflasker med kogt, steriliseret Siposeurt, som jeg under Kirsebærtræerne i Carlsbergs Have udsatte for Luftens direkte Paavirkning. Af de Optegnelser, som jeg strax efter Undersøgelsen gjorde om denne Svamp, fremgaar det, at den kun ved sin Farve adskilte sig fra Saccharomyces ellipsoideus, og at den navnlig i alle andre Karakterer end netop i denne stemmede ret godt overens med den Form, som Brefeld har beskrevet og afbildet under Navn af »Naturgjær (Vingjær eller vild Gjær)«. Mange af Cellerne havde dannet Askosporer, og disse afvege i intet Væsentligt fra den nævnte Forfatters Afbildninger[1]).

---

[1]) l. c. Tafel II, Fig. 10e.

Hverken hos Reess, Pasteur eller Engel er der Tale om rødfarvede Gjærsvampe. Schröter og Cohn[1]) meddele nogle Iagttagelser om disse Former, og de blive af den sidstomtalte Forsker benævnede med Navnet »Rosengjær« og uden nærmere Drøftelse henførte til Fresenius's Art, Cryptococcus glutinis, men under Slægtsnavnet Saccharomyces. Saavel det Ene som det Andet var maaske noget overilet. Askosporerne kjendte Cohn nemlig ikke og havde altsaa ingen Sikkerhed for, at hans Rosengjær henhørte til den nævnte Slægt. Og hvad Artsbestemmelsen angaar, saa lod han sig vistnok herved udelukkende lede af Svampens meget karakteristiske Farve. At Saadant ikke er tilstedeligt, vil det Følgende vise. Jeg skal dog ikke vove at rette nogen Bebrejdelse imod den af de lavere Organismers Biologi og Systematik saa højt fortjente Forsker, saa meget mindre som jeg selv væsentligt paa Grund af Farven strax bestemte mine røde Gjærsvampe som henhørende til den omtalte Art.

Ved senere selv at gjennemgaa Fresenius's Beskrivelse og Afbildninger[2]) opstod der Tvivl hos mig om Rigtigheden af Cohn's og min Bestemmelse; jeg foretog derfor Sammenligninger mellem mine egne og de to sidstnævnte Skribenters Angivelser og fandt herved bestandigt flere Uoverensstemmelser og Meget, som syntes at tyde paa, at der under Navnet Cryptococcus glutinis skjulte sig mere end een Art. Jeg havde imidlertid endnu kun dunkle Forestillinger om Sagens rette Sammenhæng, og ledede af disse anstillede jeg mine første Forsøg. Det gjaldt først om ikke blot igjen at erholde den af mig tidligere iagttagne, røde Gjærsvamp med sine Askosporer, men tillige at finde de af Fresenius, Schröter og Cohn beskrevne Former. Derfor gjentog jeg disse Forskeres Dyrkningsforsøg, idet jeg udsatte Klister og kogte Kartoffelskiver for Luftens direkte Paavirkning, dels i Laboratoriet og dels i et nærliggende, beboet Hus. Samtidig hermed anbragte jeg mine Kogeflasker med Siposeurt paa forskjellige Steder i Haven.

I Begyndelsen af Oktober optraadte der paa Overfladen af en kogt Kartoffelskive, som var bleven holdt fugtig og i nogle Dage havde staaet i Kjøkkenet i det omtalte Hus, nogle smaa, lysrosenrøde Pletter med et tørt, mat Udseende og af en saa ringe Størrelse, at de netop kunde bemærkes med blotte Øjne. De fandtes dels enkeltvis, dels flere i Forening i en stor Hob, hvor den

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 B. 2 H., 1872, p. 110 og 187. Taf. III, Fig. 6.

[2]) Fresenius, Beiträge zur Mykologie, 1850—63, p. 77, Tafel VIII, Fig. 43—46.

smukke, rosenrøde Farve da især blev tydelig. Ved at foretage mikroskopisk Undersøgelse deraf saa jeg snart, at de vare dannede af utallige, smaa Gjærsvampe eller i det Mindste Former, der aldeles lignede disse. Cellerne vare meget smaa, i Reglen næsten kuglerunde og mindede i Formen ikke lidet om Engel's Saccharomyces minor. I nogle men langtfra i alle iagttoges et eller to temmelig stærkt lysbrydende Korn, der lignede de hos Saccharomyces Mycoderma almindeligt tilstedeværende, og som opløstes ved Tilsætning af absolut Æther. Ved Kultur i Ranvier's Kammer med Lufttilledningsrør og Siposeurt som Næringsvædske iagttog jeg, at de formerede sig ved Knopskydning som Gjærsvampe i Almindelighed. Fig. 42—42''' og Fig. 43—43'' vise to Udviklingsrækker. Cellerne dannede ikke Kolonier af flere i længere Tid indbyrdes sammenhængende Individer, men de nydannede skiltes hurtigt fra Modercellen og begyndte strax selv at udskyde Knop. I Reglen medgik der c. 3 Timer til Dannelsen af en ny Celle, regnet fra det Øjeblik, da dens første Anlæg kunde iagttages, til det, da den løsnede sig fra sin Modercelle. Der viste sig ingen anden Formeringsmaade end den omtalte. Ved Udsæd paa Gibsblokke, der i dækkede Glas med destilleret Vand holdtes jævnt fugtige (Engel's Methode)[1]), bestræbte jeg mig forgjæves for at fremkalde Askosporedannelsen. Under den sidstnævnte Kultur optraadte der store, tydelige Vakuoler, i Almindelighed kun en i hver Celle, og i det denne omgivende Protoplasma fandtes hyppigt et eller to stærkt lysbrydende Korn (Fig. 44). Det er rimeligvis disse, Cohn tænker paa, naar han taler om, at Cellerne skulle være udstyrede med en Cellekjærne. Ligesom de ovenfor omtalte opløses de i absolut Æther og maa nærmest betragtes som fedtagtige Dannelser. Efter Udsæd paa Klister fremkom der hurtigt røde Pletter som de ovenfor beskrevne og dannede af lignende Celler.

5te Oktbr. blev en af de omtalte Kogeflasker med Siposeurt aabnet i Haven under Kirsebærtræerne, hvor jeg lod den staa 72 Timer, og derpaa, efterat have tilbundet den med Filtrerpapir, der i Forvejen var trukket igjennem en Flamme, anbragte den i Thermostaten ved 27° C. Vædsken var da brun, klar og syntes ikke at indeholde Organismer. Da den d. 18de blev undersøgt, var den endnu brun og temmelig klar, men paa dens Overflade fandtes dels et Par smaa, hvidlige Skimmeløer og dels tynde, næsten rosenrøde Hindepartikler, der bestode af for det Meste ovale, undertiden omtrent rektangulære, gjærsvampelignende Celler,

[1]) Engel, Les ferments alcooliques. 1872, p. 16.

som i Almindelighed indeholdt stærkt lysbrydende Korn. I Bundfaldet fandtes de samme Celler, forøvrigt se »Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften o. s. v.«, 12te Forsøgsrække. I Siposeurt i Ranvier's Kammer formerede de sig livligt ved Knopskydning (Fig. 38—38' og 39—39'). De herved opstaaede Koloniers Celler skiltes oftest hurtigt fra hverandre, men forbleve ogsaa i enkelte Tilfælde indbyrdes forbundne (Fig. 40); de minde i det Hele ikke saa lidt om Saccharomyces Mycoderma. Ved at inficere Klister, kogte Kartoffelskiver, Ølurt i en Pasteursk Kolbe, usyret, fugtig Brød og Biscuit dermed, fremkom der efter en eller højst nogle faa Dages Forløb røde Pletter, som navnlig paa Klisteret og Kartoffelskiverne havde en smuk rød, undertiden zinnoberrød Farve; Overfladen var i sidstnævnte Tilfælde snart mat og tør, snart glindsende, lidt slimet. Udsæd paa en Gibsblok gav ligesaa lidt som de øvrige Kulturforsøg Askosporer. Under mangelfulde Ernæringsforhold optraadte de stærkt lysbrydende Legemer almindeligt (Fig. 41); de forsvandt hurtigt ved Tilsætning af absolut Æther. Paa Biscuitstykket havde Cellerne antaget et ejendommeligt Udseende; de vare nemlig blevne meget store, kuglerunde og indeholdt stærkt udprægede Vakuoler.

Omtrent i Midten af samme Maaned iagttog jeg lignende rosenrøde Pletter paa lidt Klister, som jeg havde ladet staa nogle Dage i Laboratoriet. De vare dannede af ovale, vandgraa Celler, hvis Protoplasma i Almindelighed var grynet, kornet og undertiden indesluttede Vakuoler og stærkt lysbrydende Korn. Der viste sig her det i høj Grad paafaldende Forhold, at nogle af Cellerne havde udskudt Knop som Gjærsvampe (Fig. 30, 31, 36), medens derimod andre vare udstyrede med kortere eller længere Spiretraade, ofte paa en meget barok Maade (Fig. 10, 19, 27, 29) og ikke sjeldent saaledes, at der fremkom en næsten amøbelignende Dannelse (Fig. 20). Skjøndt Modercellerne, hvorfra i det ene Tilfælde Knopperne og i det andet Spiretraadene udsprang, tilsyneladende vare af samme Slags, forekom det mig dog rimeligst at antage, at der her ikke fandtes en men to Arter, og endog to indbyrdes meget forskjellige. Sammenlign f. Ex. Fig. 36 med Fig. 29. For at sikre mig et tilstrækkeligt Materiale til de Experimenter, som jeg nu agtede at anstille, inficerede jeg Siposeurt, frisk Klister og kogte Kartoffelskiver dermed, og efter nogle faa Dages Forløb opnaade jeg efter Ønske en rig, rødtfarvet Vegetation. Jeg havde ligeledes min Opmærksomhed henvendt paa Askosporedannelsen, og i den Hensigt foretog jeg Udsaaningsforsøg paa Gibsblokke. Ved at underkaste de nævnte, forskjellige Substraters Bidrag en mikro-

skopisk Undersøgelse iagttog jeg, at de mærkværdige Celler med Spiretraadene slet ikke fandtes i Siposeurten, men derimod vare meget rigt repræsenterede i Kulturerne paa de fugtige Gibsblokke. Vegetationerne paa Klisteret og Kartoffelskiverne indeholdt kun nogle faa Exemplarer deraf, men ellers fandtes her ligesom i Siposeurten dels særskilte Celler og dels saadanne, som vare i Knopskydning. Der kunde være nogen Grund til af denne Iagttagelse at drage den Slutning, at min røde Vegetation dog maaske bestod af een Art, som under forskjellige Livsforhold snart optraadte med en Gjærsvamps Knopskydning og snart med de ejendommelige Spiretraade. Denne Gisning bestyrkedes yderligere derved, at jeg fandt nogle Celler, der paa een Gang havde udskudt Knop og Spiretraad (Fig. 12). Der blev nu gjennem Kulturforsøgene stillet bestemte Spørgsmaal. Som et Exempel meddeles nedenfor en Forsøgsrække:

21de Oktbr. blev en Vegetation, som ikke indeholdt Celler med Spiretraade, benyttet til Udsæd paa en Gibsblok, paa Skiver af kogt Kartoffel og raat Æble, paa Siposeurt i et Uhrglas og i en Pasteursk Kolbe, paa Gelatine og paa usyret Rugbrød, i sidstnævnte Tilfælde dels frit paa dets Overflade og dels begravet inde i dets Masse.

Paa Gibsblokken: Den 22de Oktbr. Flere af Cellerne i Knopskydning, ingen Spiretraade. Den 23de. Over Halvdelen af Cellerne med Spiretraade. Den 24de. De fleste Celler med Spiretraade.

Paa Skiverne af Kartoffel og Æble: Den 22de Oktbr. Store rødfarvede Pletter, mange Celler i Knopskydning, ingen med Spiretraade. Den 25de. Celleformeringen ved Knopskydningen har været fortsat, nogle faa Celler med Spiretraade findes.

Paa Siposeurten i Uhrglasset: Den 25de Oktbr. Langs Vædskens Rand, umiddelbart op mod Glasset, findes en rød, lidt slimet Ring, udelukkende bestaaende af langstrakte, ovale Celler, enkeltvis eller i Knopskydning, men ingen med Spiretraade.

Paa Siposeurten i den Pasteurske Kolbe: Den 29de Oktbr. Ingen makroskopisk Udvikling.

Paa Gelatinen: Den 22de Oktbr. Nogle Celler i Knopskydning, ingen med Spiretraade. Den 25de. Omtrent Halvdelen af Cellerne med Spiretraade.

Paa Rugbrødet: Den 23de Oktbr. Stærkt rødfarvede Pletter, næsten som Zinnober, mat Overflade, rigelig Knopskydning, næsten ingen Spiretraade. Inde i Brødmassen Pletter med svagere rød Farve, men ellers af samme Beskaffenhed.

Af saadanne og lignende Forsøg har jeg anstillet flere og bestandigt opnaade jeg samme Hovedresultat, nemlig, at en Udsæd af Celler uden Spiretraade i Siposeurt altid udviklede talrige Knopper, men ingen Spiretraade, hvorimod samme Udsæd paa Gelatine og Engel's Gibsblokke hurtigt standsede med Knopskydningen og derpaa gav en rig Spiretraadsdannelse. Heraf maatte jeg være tilbøjelig til at slutte, at de to Former i Virkeligheden hørte genetisk sammen, at Cellerne med Knopskydningen hørte til samme Art som Cellerne med Spiretraadene, og at den ene Form kunde udvikle sig af den anden. Det syntes endvidere heraf at fremgaa, at et gjæringsmægtigt Næringssubstrat betingede Knopskydningen, medens Spiretraadsdannelsen derimod krævede en fast Bund uden Næringsstof, men med Adgang til atmosfærisk Luft og fornøden Fugtighed. Hvis disse Forestillinger vare rigtige, saa maatte den knopskydende Vegetation fra Siposeurten, naar den overførtes paa Engel's Gibsblokke, her give Celler med Spiretraade, og naar disse atter overførtes i frisk Urt, maatte man vente at erholde en Vegetation i kraftig Knopskydning uden Dannelse af Spiretraade. Ogsaa disse Forsøg bleve anstillede og fik det forventede Resultat. Af den ovennævnte Kultur i Siposeurten fra den 25de Oktbr., der som meddelt ikke indeholdt Celler med Spiretraade, anbragte jeg en lille Del paa en fuldstændigt ren Gibsblok, som derefter omhyggeligt blev dækket. Ved Dagen derpaa at tage Prøver til mikroskopisk Undersøgelse fandt jeg kun Celler med Knopskydning, men ingen Spiretraade; efter tre Dages Forløb optraadte derimod disse i stor Mængde. De bleve strax overførte dels i Urt og dels i kogt Vindruesaft og formerede sig begge Steder livligt ved Knopskydning.

Ved disse Experimenter var Rigtigheden af min Opfattelse i høj Grad gjort sandsynlig; det fuldstændige Bevis var dog ikke givet; dette kunde først opnaas gjennem en umiddelbar Iagttagelse af den ene Forms Overgang til den anden, naar de udsattes for de i det Foregaaende omtalte forskjellige Livsforhold. I den Retning foretog jeg Kulturer i de tidligere beskrevne fugtige Kamre med Siposeurt eller kogt Vindruesaft som Næringsvædske, paa Gelatine og paa de oftere omtalte Gibsblokke. I Kamrene blev nu en enkelt bestemt Celle i længere Tid iagttagen med meget korte Mellemrum, og dens Udvikling nøjagtigt fulgt. Det viste sig, som jeg havde ventet, at de her i gjæringsmægtige Vædsker kun formerede sig ved Knopskydning (Fig. 1—3''' og 35—35''') og ingensinde dannede Spiretraade. Af de saaledes fremkomne Celler bleve nogle anbragte paa en Gibsblok, nogle overførte i ny Nærings-

vædske af samme Art som den første, og Resten anbragt paa Overfladen af et lille Stykke aldeles klar, gjennemsigtig Gelatine, som jeg holdt jævnt fugtigt. I dette Stof havde jeg et Middel til uafbrudt at iagttage den videre Udvikling af de ved Knopskydning i den gjæringsdygtige Vædske erholdte Celler. Jeg kunde nemlig paa et Objektglas under Mikroskopet anbringe mit Gelatinestykke med dets fra første Stund bestemte Antal Celler og endog iagttage disse ved Hjælp af det stærkeste Tørsystem, Obj. F. i Zeiss's Mikroskop, uden at behøve at lægge et Dækglas derpaa. I Begyndelsen formerede de sig ogsaa her ved Knopskydning, dog ikke stærkt og rimeligvis kun saalænge, indtil den medbragte, ved Cellerne klæbende Næringsvædske var opbrugt. Efter tre Dages Kultur begyndte de fleste i Reglen at udskyde Spiretraade (Fig. 17, 18, 21); disses Dannelse foregik dog altid hurtigere og sikkrere paa Gibsblokkene. Ved nu atter at føre en eller flere af de saaledes iagttagne Celler tilbage i Siposeurten eller Vindruesaften i et af de fugtige Kamre erfarede jeg, at ikke blot Modercellerne men og Spiretraadene i de allerfleste Tilfælde udviklede Knopper (Fig. 4—7, 13, 15—16). Det røde Pigment fandtes baade i disse og i Cellerne med Spiretraade.

Der er altsaa ikke længere Tvivl om, at de to Former høre genetisk sammen, og ejheller om, at Knopskydningen og Spiretraadsdannelsen ere betingede af forskjellige, ydre Livsforhold. Ved at se hen til de Vilkaar, der bydes de spiretraaddannende Celler paa Gibsblokken og Gelatinen maatte jeg formode, at det ogsaa i et fugtigt Kammer vilde være muligt at fremtvinge denne Udvikling. Jeg benyttede hertil Böttcher's med Lufttilledningsrør, hvilket jeg indrettede saaledes, at det uafbrudt var fyldt med Vanddamp. Cellerne bleve, efterat den vedhængende Næringsvædske ved Udvaskning med destilleret Vand var fjernet, anbragte paa Undersiden af Dækglasset, der fastgjordes til Ringen ved Hjælp af Vaseline. Kun i nogle Tilfælde havde jeg imidlertid Held med mig og opnaade Dannelsen af Spiretraade; som oftest bleve derimod Cellerne uforandrede, rimeligvis paa Grund af en Fejl i Fugtighedsforholdene, hvilke det ved denne Methode er meget vanskeligt at afpasse paa den rette Maade.

I Ranvier's Kammer med Siposeurt som Næringsvædske formerede Cellerne sig oftest livligt ved Knopskydning, hvad enten der fandtes Lufttilledningsrør eller ej, og hvad enten de laa i Vædskens Midte eller nær dens Rand. Der medgik i Reglen $1^1/_2$—2, sjeldnere 3 Timer fra det Øjeblik, da den nydannede Celle netop kunde skimtes som en ubetydelig, lille Udbugtning paa

Af saadanne og lignende Forsøg har jeg anstillet flere og bestandigt opnaade jeg samme Hovedresultat, nemlig, at en Udsæd af Celler uden Spiretraade i Siposeurt altid udviklede talrige Knopper, men ingen Spiretraade, hvorimod samme Udsæd paa Gelatine og Engel's Gibsblokke hurtigt standsede med Knopskydningen og derpaa gav en rig Spiretraadsdannelse. Heraf maatte jeg være tilbøjelig til at slutte, at de to Former i Virkeligheden hørte genetisk sammen, at Cellerne med Knopskydningen hørte til samme Art som Cellerne med Spiretraadene, og at den ene Form kunde udvikle sig af den anden. Det syntes endvidere heraf at fremgaa, at et gjæringsmægtigt Næringssubstrat betingede Knopskydningen, medens Spiretraadsdannelsen derimod krævede en fast Bund uden Næringsstof, men med Adgang til atmosfærisk Luft og fornøden Fugtighed. Hvis disse Forestillinger vare rigtige, saa maatte den knopskydende Vegetation fra Siposeurten, naar den overførtes paa Engel's Gibsblokke, her give Celler med Spiretraade, og naar disse atter overførtes i frisk Urt, maatte man vente at erholde en Vegetation i kraftig Knopskydning uden Dannelse af Spiretraade. Ogsaa disse Forsøg bleve anstillede og fik det forventede Resultat. Af den ovennævnte Kultur i Siposeurten fra den 25de Oktbr., der som meddelt ikke indeholdt Celler med Spiretraade, anbragte jeg en lille Del paa en fuldstændigt ren Gibsblok, som derefter omhyggeligt blev dækket. Ved Dagen derpaa at tage Prøver til mikroskopisk Undersøgelse fandt jeg kun Celler med Knopskydning, men ingen Spiretraade; efter tre Dages Forløb optraadte derimod disse i stor Mængde. De bleve strax overførte dels i Urt og dels i kogt Vindruesaft og formerede sig begge Steder livligt ved Knopskydning.

Ved disse Experimenter var Rigtigheden af min Opfattelse i høj Grad gjort sandsynlig; det fuldstændige Bevis var dog ikke givet; dette kunde først opnaas gjennem en umiddelbar Iagttagelse af den ene Forms Overgang til den anden, naar de udsattes for de i det Foregaaende omtalte forskjellige Livsforhold. I den Retning foretog jeg Kulturer i de tidligere beskrevne fugtige Kamre med Siposeurt eller kogt Vindruesaft som Næringsvædske, paa Gelatine og paa de oftere omtalte Gibsblokke. I Kamrene blev nu en enkelt bestemt Celle i længere Tid iagttagen med meget korte Mellemrum, og dens Udvikling nøjagtigt fulgt. Det viste sig, som jeg havde ventet, at de her i gjæringsmægtige Vædsker kun formerede sig ved Knopskydning (Fig. 1—3''' og 35—35''') og ingensinde dannede Spiretraade. Af de saaledes fremkomne Celler bleve nogle anbragte paa en Gibsblok, nogle overførte i ny Nærings-

vædske af samme Art som den første, og Resten anbragt paa Overfladen af et lille Stykke aldeles klar, gjennemsigtig Gelatine, som jeg holdt jævnt fugtigt. I dette Stof havde jeg et Middel til uafbrudt at iagttage den videre Udvikling af de ved Knopskydning i den gjæringsdygtige Vædske erholdte Celler. Jeg kunde nemlig paa et Objektglas under Mikroskopet anbringe mit Gelatinestykke med dets fra første Stund bestemte Antal Celler og endog iagttage disse ved Hjælp af det stærkeste Tørsystem, Obj. F. i Zeiss's Mikroskop, uden at behøve at lægge et Dækglas derpaa. I Begyndelsen formerede de sig ogsaa her ved Knopskydning, dog ikke stærkt og rimeligvis kun saalænge, indtil den medbragte, ved Cellerne klæbende Næringsvædske var opbrugt. Efter tre Dages Kultur begyndte de fleste i Reglen at udskyde Spiretraade (Fig. 17, 18, 21); disses Dannelse foregik dog altid hurtigere og sikkrere paa Gibsblokkene. Ved nu atter at føre en eller flere af de saaledes iagttagne Celler tilbage i Siposeurten eller Vindruesaften i et af de fugtige Kamre erfarede jeg, at ikke blot Modercellerne men og Spiretraadene i de allerfleste Tilfælde udviklede Knopper (Fig. 4—7, 13, 15—16). Det røde Pigment fandtes baade i disse og i Cellerne med Spiretraade.

Der er altsaa ikke længere Tvivl om, at de to Former høre genetisk sammen, og ejheller om, at Knopskydningen og Spiretraadsdannelsen ere betingede af forskjellige, ydre Livsforhold. Ved at se hen til de Vilkaar, der bydes de spiretraaddannende Celler paa Gibsblokken og Gelatinen maatte jeg formode, at det ogsaa i et fugtigt Kammer vilde være muligt at fremtvinge denne Udvikling. Jeg benyttede hertil Böttcher's med Lufttilledningsrør, hvilket jeg indrettede saaledes, at det uafbrudt var fyldt med Vanddamp. Cellerne bleve, efterat den vedhængende Næringsvædske ved Udvaskning med destilleret Vand var fjernet, anbragte paa Undersiden af Dækglasset, der fastgjordes til Ringen ved Hjælp af Vaseline. Kun i nogle Tilfælde havde jeg imidlertid Held med mig og opnaade Dannelsen af Spiretraade; som oftest bleve derimod Cellerne uforandrede, rimeligvis paa Grund af en Fejl i Fugtighedsforholdene, hvilke det ved denne Methode er meget vanskeligt at afpasse paa den rette Maade.

I Ranvier's Kammer med Siposeurt som Næringsvædske formerede Cellerne sig oftest livligt ved Knopskydning, hvad enten der fandtes Lufttilledningsrør eller ej, og hvad enten de laa i Vædskens Midte eller nær dens Rand. Der medgik i Reglen 1½—2, sjeldnere 3 Timer fra det Øjeblik, da den nydannede Celle netop kunde skimtes som en ubetydelig, lille Udbugtning paa

Modercellen og til det, da den som helt udviklet frigjordes. Den skilte sig som oftest meget hurtigt fra sin Modercelle, og der opstod følgelig sjeldent Kolonier. I en flere Dage gammel Kultur vare disse dog ret almindelige. Hos livskraftige Individer iagttog jeg hyppigt, at en Celle successivt fra det selvsamme Punkt udviklede et temmelig stort Antal nye Celler, i et Tilfælde 5 i 12 Timer, i et andet 3 i 8 Timer, og saaledes, at den foregaaende frigjordes, naar den følgende netop begyndte at træde frem. Der viste sig heri en bestemt Regelmæssighed og Gjentagelse, idet den følgende, nydannede Celle ikke blot kom frem nøjagtigt paa det selvsamme Punkt af Modercellen eller dens Spiretraad som den foregaaende, men ogsaa gjentog hele dennes Udvikling (Fig. 1—3''') og efterlignede dens Form; kun i Henseende til Tiden fandtes der betydeligere Differenser. Der gjør sig saaledes en regelmæssig Gjentagelse gjældende i hele Udviklingen, og de knopskydende Celler have visse, bestemte Væxtpunkter, som udelukkende benyttes. En Modercelle kan have et eller flere af disse, og hvis den er oval, hvilket hyppigst finder Sted, saa ere de oftest knyttede til de kuppelformede Ender. Naar den knopskydende Celle har en Spiretraad, bliver denne regelmæssig anvendt i Formeringens Tjeneste, men samtidigt hermed kan en kraftig Celle desuden have et eller endog to andre Væxtpunkter, saa at den ikke blot fra Spiretraaden, men tillige fra hver af sine to Ender udposer en Knop, det vil sige tre ialt (Forklaringen over Fig. 1—3''' bedes gjennemlæst). Spiretraaden kan, som mine Afbildninger vise (Fig. 1—29, 33—34), opnaa meget forskjellig Størrelse og Form og udspringe fra forskjellige Punkter paa Modercellen, dog sjeldnere fra dennes Ender. Den er hyppigt kort, udstrittende, tilspidset (Fig. 12) men kan ogsaa være temmelig lang, bugtet og have but afrundet Ende (Fig. 8, 26); grenede og i Enden kløvede Spiretraade ere ikke sjeldne (Fig. 25—29). I den gjæringsmægtige Vædske svulmer den i Reglen under Forberedelsen til Knopskydningen, og den har ligesom selve Modercellen sit bestemte Væxtpunkt, hvorfra ligesom hos denne de nydannede Celler successivt udskydes som Knopper, den ene efter den anden, paa samme Maade. Det behøver ikke at være knyttet til Spiretraadens yderste Spids, men kan ogsaa findes indenfor denne (Fig. 13). En Spiretraad med flere end et Væxtpunkt fandt jeg ikke. I Kulturer paa Gibsblokke findes hyppigt Tilfælde, hvor Modercellens hele Protoplasmaindhold er vandret ud i Spiretraaden; dennes Spids bliver herved undertiden opsvulmet, og ikke sjeldent er dens Grunddel ligesom selve Modercellen udtømt (Fig. 7—8). Et Par Gange fandt jeg i Masse-

kulturerne Celler, hvis Spiretraades Grunddel var meget tyk og udstyret med forholdsvis tykke Grene med but afrundede Ender (Fig. 32). Jeg har imidlertid Tvivl, om de virkelig høre til vor Art. I gamle Gibskulturer iagttog jeg undertiden Spiretraade med en Tværskillevæg (Fig. 11). Iøvrigt henvises til Afbildningerne og den til disse knyttede Forklaring.

Cellerne ere, som mine Tegninger vise, hyppigst mere eller mindre ovale, men kunne dog ogsaa være kuglerunde eller have andre Former. Størrelsen er ligeledes meget forskjellig; de største Exemplarer findes iblandt de knopskydende. Flere af Figurerne fremstille Celler med Vakuoler, men der kan intet Almindeligt siges derom; i mange findes stærkt lysbrydende Korn (Fig. 37) som forsvinde ved Tilsætning af absolut Æther. Undertiden, vistnok naar der har været Mangel paa Næring, optræde disse glindsende Korn som forholdsvis store, kuglerunde Legemer, ofte et i hver af Cellernes Ender. I Siposeurt, hvor Knopskydningen foregaar livligt, findes de i Almindelighed ikke.

En Forsøgsrække med Sukkervand (10%), Blomme-, Æble- og Vindruesaft som Næringsvædsker gav intet bestemt Resultat. I den førstnævnte Vædske syntes ingen Knopskydning at indtræde, derimod i de øvrige, navnlig i Vindruesaften. I Begyndelsen indeholdt Blomme- og Æblesaften en rig Knopskydning og ingen Spiretraadsdannelse, efter 6 Dages Forløb var Forholdet derimod omvendt, vistnok paa Grund af de indtraadte mangelfulde Ernæringsforhold; de paagjældende Vædskers Overflade vare da ogsaa tildels bedækkede med Skimmel.

Som et Exempel paa, at de røde Cellers Pigment kan optages af andre Organismer, kan jeg meddele, at jeg ved at undersøge en gammel Kultur paa Klister fandt, at de røde Pletters Celler vare døde og mere eller mindre opløste, men at Næringsbunden nu var optagen af et grenet, septeret Mycelium, som nærmest mindede om en Mucors, og dette bredte sig ikke blot udenfor de omtalte Pletter, men trængte ogsaa ind i disse, og her havde da dets Celler optaget det røde Farvestof i sig, medens de udenfor værende som sædvanlig vare vandgraa.

De her omhandlede pigmentdannende Svampe kunne altsaa i Ølurt formere sig ved Knopskydning, og især paa Klister og kogte Kartoffelskiver frembringe smukke rosen- og zinnoberrøde Pletter. Saalænge disses Farve er rent rød, ville de ogsaa findes at være

frie for Bakterier; men naar disse optræde, fremkommer der tillige en Farveforandring, Overgange til graaladen eller gul Tone, og tilsidst kan den smukke røde Farve aldeles forsvinde. Det er heller ikke let at holde Skimmelsvampene ude, navnlig gjælder dette om den almindelige og paatrængende Penicillium glaucum. Ved at anvende den fornødne Omhu vil man dog i et Par Dage efter Udsæden kunne bevare en smuk ren Vegetation. De anvendte Kartoffelskiver bør være skrællede, godt gjennemkogte og derefter aftørrede i Filtrerpapir, som kort i Forvejen er trukket igjennem en Flamme; der kræves nemlig kun en middelmaadig Fugtighed, og hvad der er derover, fremmer i Virkeligheden ikke Udviklingen af de udsaade Celler, men skader den endog, idet den nemlig gjør det lettere for Bakterier at erobre sig Plads. Til Undersøgelser, som vare i længere Tid, og som kræve Renkulturer, bør man helst hver Dag inficere friskt Næringssubstrat. Ved Dyrkningsforsøg med Vædsker i Pasteurske Kolber er dette naturligvis overflødigt. Det er kun, naar Cellerne ligge samlede i Masse, at den røde Farve kommer frem; betragtes de hver for sig under Mikroskopet ved gjennemfaldende Lys, saa ere de vandgraa eller farveløse, og ved paafaldende Lys (Abbe's Apparat) se de paa den mørke Grund nærmest ud som hvidligt Glas. Angaaende de i det Foregaaende omtalte Dyrkningsforsøg bemærkes, at de alle ere foretagne i et Værelse, hvis Temperatur om Dagen var 17—18 og om Natten 8—9° C.

Vore rødfarvede Svampe synes at udgjøre to eller maaske tre forskjellige Arter; heraf stemmer den i Fig. 42—44 fremstillede godt overens med Cohn's Saccharomyces glutinis og udmærker sig fornemlig ved sin mere eller mindre kuglerunde Form og ringe Størrelse. Formen fra Luften i Haven er ubestrideligt en Saccharomycesart; dette gjælder i det Mindste med Hensyn til de først iagttagne Exemplarer, hvoraf flere, som ovenfor bemærket, indeholdt Askosporer. De i Octbr. erholdte have, som Fig. 38—41 vise, ovale, ofte noget kantede Celler og høre sikkert til samme Art som de nærmest omtalte med Askosporer. Den tredie Art endelig (Fig. 1—37 er karakteristisk ved sine mærkværdige Spiretraade; dens knopskydende Celler ligne især Saccharomycesarten fra Luften i Haven. Den systematiske Benævnelse saavel af denne som af den nærmest foregaaende Form opsættes indtil videre.

Det er allerede berørt, at Cohn vistnok med Urette henførte sin og Schröter's pigmentdannende Svamp til den af Fresenius opstillede Art, og efter det udvidede Kjendskab, som nu igjennem mine Undersøgelser er vundet, bliver denne Tvivl næsten til Vished.

Ved at sammenligne Fresenius's Beskrivelser og Afbildninger ses det nemlig, at det ikke er med Cohn's kuglerunde Form, men med min sidst beskrevne Art, at den nærmeste Overensstemmelse finder Sted. Fresenius's Fig. 46 leder navnlig Tanken hen paa en Modercelle, der har udskudt en lang Spiretraad, fra hvis Ende der atter afsnøres en Knop. Da Cohn nu imidlertid har knyttet Artsnavnet »glutinis« til sin kuglerunde Form og hertil givet en kjendelig Afbildning, saa vil det være mest praktisk herefter ikke at foretage nogen Forandring i den Henseende. Det er desuden ikke muligt med fuldstændig Sikkerhed at afgjøre, hvilken Form Fresenius har undersøgt. Guillaud[1]) antyder, at Saccharomyces glutinis (Fres.) Cohn rimeligvis er synonym med Sacch. minor Engel[2]). Ville vi imidlertid med den Viden, vi i Øjeblikket have, adskille forskjellige Saccharomycesarter, saa maa ogsaa disse to holdes ude fra hinanden. Jeg har experimenteret meget med den sidstnævnte Gjærsvamp fra Surdejg, men ingensinde bemærkede jeg, at den var i Stand til at danne rødt Pigment, hvilket dog sikkert maa betragtes som en væsentlig Karakter af mindst ligesaa stor Betydning som de andre af Reess og Engel opstillede.

De gjærsvampelignende Celler med de ejendommelige Spiretraade kunne ikke ret vel henføres til Slægten Saccharomyces; thi saavidt vor Kundskab om denne strækker sig, formaa Cellerne her ikke at udvikle Spiretraade, og deres Knopper komme frem tilsyneladende uden Orden og Regel; der findes vel Væxtpunkter, men de vedblive ikke at fungere; dette er derimod Tilfældet hos de egentlige Svampe, og til disse maa de omtalte Former sikkert henregnes. De høre maaske til en eller anden Exoascus-Art. Om Exoascus Pruni vide vi fra de Bary's interessante Arbejde, at dens Sporer i Vand og i en sukkerholdig, gjæringsmægtig Vædske kunne formere sig ved Knopskydning og frembringe en Vegetation, som aldeles ligner en Gjærsvamps. Hvorledes de normalt spire og hos Værtplanten udvikle den mærkværdige Askomycet lykkedes det desværre ikke den berømte Mykolog at opdage, og vi ere i den Henseende endnu uvidende. Skulde min Form tilhøre en Art af denne Slægt? Der er Noget, som kan lede Tanken hen paa en saadan Mulighed, nemlig dette, at Cellerne i en gjæringsmægtig Vædske formere sig paa Gjærsvampes Vis ved Knopskydning, men under visse andre Forhold derimod udvikle Spiretraade. Der fandtes rigtignok ikke hos Frugterne i Carlsberg Have i 1878 den Sygdom,

---

[1]) Guilland, Les ferments figurés, 1876, p. 33.
[2]) l. c. p. 30—36, Fig. 6—7.

som fremkaldes af de nævnte Svampe, og som f. Ex. hos Blommerne giver dem de misdannede Former, der kaldes Blommetasker, Taschen, Schoten, Narren, Hungerzwetschen, Turcas, men Sporerne kunne derfor godt have været til Stede i Luften. Exoascusformerne optræde desuden ogsaa som Parasiter i Planters Bladkjød. Jeg har saaledes tørrede Exemplarer fra Prof. Niessl af Exoascus deformans (Berkl.) Fckl. Symb. p. 252 i Blade af Prunus chamæcerasi, og Fuckel fandt denne Art i Blade af Persica vulg. og Cerasus avium. Da jeg imidlertid først i Slutningen af Octbr. er bleven opmærksom paa disse Forhold, har jeg maattet opsætte de fornødne Forsøg til næste Aar. Foruden denne Slægt gives der iøvrigt flere andre Svampe, hvis Celler under visse Forhold kunne ligne Saccharomycesarterne; hertil høre f. Ex. Dematium, Fumago, Exobasidium og Dothidea.

Hovedsummen af alt Dette er følgende:

1. Under Artsnavnet Cryptococcus glutinis Fres. skjules i Virkeligheden flere rødfarvede Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler.
2. Foruden den af Cohn som Saccharomyces glutinis (Fres.) beskrevne Form omhandles her i denne Afhandling saaledes to andre, hvoraf den ene er udstyret med Askosporer som en ægte Saccharomycesart, og den anden med gjærsvampelignende Celler, der i en gjæringsdygtig Vædske (Siposeurt, Vindruesaft) forholde sig morfologisk som en Saccharomyces og formere sig ved Knopskydning, men derimod under mangelfulde Ernæringsvilkaar, f. Ex. paa fast Substrat, hvor ingen andre Livsbetingelser end Fugtighed og atmosfærisk Luft ere til Stede, udvikle Spiretraade af forskjelligt, ofte paafaldende Udseende.
3. Saavel disse som selve Modercellen, hvoraf de have udviklet sig, skyde Knopper i en gjæringsdygtig Vædske.

IV.

Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver.

(Notits til Afhandlingen i 1ste Hefte S. 72).

Ved de af Hr. Kaptajn Jacobsen og Hr. Docent Rasmus Pedersen anstillede Forsøg viste det sig i Overensstemmelse med tidligere Forskeres Erfaring, at Gjæringen foregaar hurtigere, og at der avles en større Mængde Gjær, naar Urten under Gjæringen luftes, end hvis man lader den staa i Ro. Endvidere synes at fremgaa heraf, at Gjærcellernes Gjæringskraft under Luftningen svækkes, saa at den Mængde Tørstof, som f. Ex. 1 Gr. Gjær har omdannet til Alkohol, Kulsyre o. s. v., er mindre, end naar der ikke luftes under Gjæringen.

Mod de hidtil anstillede Forsøg kan der imidlertid rejses den Indvending, at flere af Gjærcellerne i det luftede Kar i længere Tid vistnok have befundet sig i Ro og maaske slet ikke ere blevne paavirkede af de indblæste Luftstrømme. Det kunde da antages, at Gjæringen udelukkende hidrørte fra disse i Ro værende og af den indledte atmosfæriske Luft upaavirkede Celler, medens Knopskydningen udelukkende blev besørget af de øvrige, som vare omstrømmede af Luften. Spørgsmaalet om Gjærcellerne, naar de have rigelig Adgang til Luftens Ilt, kunne fremkalde Gjæring, eller om de under disse Forhold miste denne Evne for kun, men efter større Maalestok at formere sig, var i Virkeligheden ikke løst. Dertil krævedes ogsaa et Apparat af en saadan Indretning, at Cellerne uafbrudt kunne omhvirvles og paavirkes af den indblæste Luft. I den Hensigt har Hr. Jacobsen i Forening med Hr. Mekaniker Hornung konstrueret det her afbildede Apparat. Det er vist i Standrids i Fig. 1; i Grundrids i Fig. 2, begge i $^1/_5$ sand Størrelse, og bestaar blandt Andet af en Glascylinder (*a*), der forneden er lukket med en med Krave forsynet Metalbund (*b*), hvortil Cylinderen slutter vandtæt. Denne bærer foroven en Ring med en overgribende Krave (*c*); ovenpaa Ringen er skruet et Tværstykke (*d*), i hvis Midte der findes Halslejet for en lodret Axe (*e*), som forneden har en kegledannet Tap (*f*), der med sin Spids hviler i en Fordybning i Cylinderens Bund. Ligeover Tappen har Axen en Udvidelse, hvortil der er fastgjort 4 Vinger af Metalblik (*g*), som danne Vinkler af 45° med det vandrette Plan, og som næsten naa helt hen til Cylinderens Væg, dog uden at berøre denne. Hver af

Vingerne er forsynet med en »Slæber« (*h*), dannet af et Stykke Kobbertraad, som er paahægtet forneden, og som, naar Axen, altsaa ogsaa Vingerne omdrejes, slæber paa Bunden, med hvilken den danner en Vinkel af c. 60°. Omdrejningen sker derved, at et konisk Hjul (*i*), som Axen bærer øverst oppe, forbindes med et

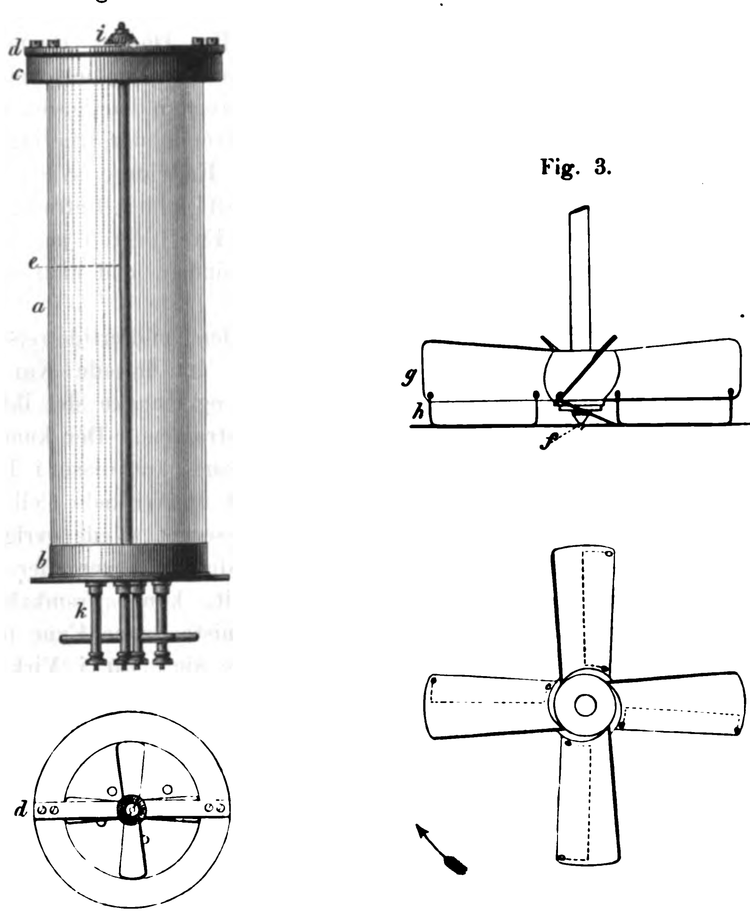


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

andet konisk Hjul, der sættes i Bevægelse af et Uhrværk. Den nederste Del af Axen med Vingerne og Sportappen ere tegnede i lodret, (Fig. 3) og i vandret Projektion (Fig. 4) i $^{1}/_{2}$ sand Størrelse. I Bunden ere 4 Luftventiler (*k*) lufttæt indskruede. I Fig. 5 findes en Afbildning i sand Størrelse af et lodret Længdesnit af en af disse. Den bestaar af et Rør, hvis nedre Del udsender en vandret

Gren (*l*). Igjennem det lodrette Rør gaar en Stift (*m*), som foroven ender med en konisk Prop (*n*) og forneden gaar igjennem en Bøsning. Den er omslynget af en Spiralfjer, som stemmer mod Rørets Bund og mod Proppens nedadvendte Del. Stiftens nederste Del findes under Bøsningen og er skrueskaaren (*o*), og forsynet med en Møttrik (*p*). Ved dennes Bevægelser kan Stiften og dermed

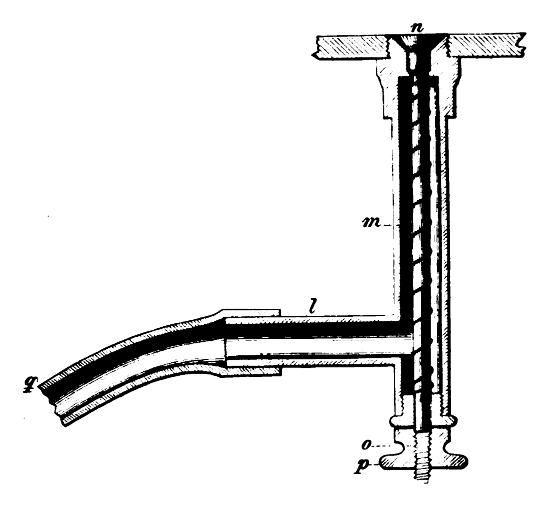


Fig. 5.

Proppen hæves og sænkes, hvorved Røret henholdsvis aabnes eller lukkes foroven. Paa Siderøret sættes, naar Apparatet skal benyttes, en Kautschukslange (*q*), der bringer det i Forbindelse med det Side 80 omtalte Luft-Kompressionsapparat, hvorfra filtreret Luft, saaledes som det paa det anførte Sted er beskrevet, bliver presset ind i Ventilerne. Luften stiger op imellem Stiften og Rørets Væg, og naar Skruen er løsnet, vil Spiralfjeren strække sig, hvorved Stiften og Proppen hæves, dog ikke op over Bundens øverste Plan. Den indblæste Luft bruser saaledes frem i fine Bobler rundt omkring Proppen. Alt med Undtagelse af Glascylinderen (*a*) er af forsølvet Metal.

Ved Hjælp af dette Apparat fortsattes de her tidligere begyndte Luftningsforsøg. Til at bestemme Gjærens Formering anvendtes Tælling ved Hjælp af det af Hr. Professor Panum paa Laboratoriet indførte Hæmatimeter af Hayem og Nachet. Angaaende den Fortyndingsvædske, som man helst bør anvende ved Tællingen, vil jeg tillade mig at meddele nogle Oplysninger. Der stilles ikke blot det sædvanlige Krav til den, at den skal have en saadan Vægt-

fylde i Forhold til Urten og Gjærcellerne, at disse ved Omrøring kunne holdes jævnt fordelte i Blandingsvædsken; men tillige dette, at den paa Gjæringens senere Stadier skal kunne bidrage til at adskille de sig da hyppigt sammenklumpende Celler, Rystning og Omrøring alene ere nemlig ikke tilstrækkelige hertil. Desuden fordres det ogsaa, at den skal indskrænke Skumdannelsen og strax ved Tilsætningen standse Gjæringen og Cellernes Formering. Der blev experimenteret meget i den nævnte Retning her paa Laboratoriet, og tilsidst lykkedes det at finde den ønskede Vædske i fortyndet Svovlsyre (1 Vægtdel stærk Svovlsyre i 10 Vægtdele Vand). Chlorbrinte vil ligeledes med Held kunne benyttes, men er ubehagelig at arbejde med. Ammoniak og Natronlud lade sig ogsaa anvende, dog staa de langt tilbage for de to nævnte Syrer. Saalænge Gjærcellernes Antal ikke var meget stort, anvendte jeg som Fortyndingsvædske 1 Vol. af den fortyndede Svovlsyre til 1 Vol. gjærende Urt; senere derimod, naar Gjæringen var skreden vidt frem og Cellernes Antal i høj Grad forøget, 6 Vol. Fortyndingsvædske (4 svag Svovlsyre + 2 Vand eller 6 svag Svovlsyre) til 1 Vol. gjærende Urt. Det er rigtigst at lade Svovlsyren virke ene en lille Tid, førend Vandet sættes til, og man maa dygtigt omrøre og gjennempidske den saaledes erholdte Blandingsvædske, hvis man vil opnaa at faa de deri indeholdte Celler jævnt fordelte.

Forsøgene bleve ligesom tidligere anstillede i det mørke Værelse. I Glascylinderen (*a*, Fig. 1) og i hver af 5 ved Siden deraf staaende Cylinderglas af samme Størrelse og Form blev der heldt 1 Liter klar, filtreret Humleurt. I Forvejen var der til den fælles Blanding sat Gjær fra Bryggeriet (Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ). Alle Karrene bleve dækkede med Glasplader og saa vidt muligt behandlede paa selv samme Maade. Men medens de 5 forbleve staaende i Ro, blev i det 6te (Fig. 1) Gjærcellerne holdte svævende og i stadig Bevægelse af de indblæste Luftstrømme og navnlig af Vingerne med deres tilhørende Slæbere (Fig. 3 og 4). Der strømmede uafbrudt rigelig Luft ind, vistnok c. 18 Liter i Timen. Paa Grund af Uhrværkets Gang med Pendul foregik Bevægelsen noget stødvis, hvilket for saa vidt var heldigt, som Gjærcellerne derved bleve endnu mere tumlede omkring og altsaa virkeligt bleve bevægede, ikke blot passivt førte med af Vædskens Strømning. Saalænge Vingerne bevægedes, fik de ingensinde Lejlighed til at komme til Ro og aflejre sig; men saasnart Uhrværket stod, sank de hurtigt tilbunds. Naar Uhrværket gaar uden Pendul passerer hver Vinge med sin tilhørende Slæber Periferien 86 Gange og, reguleret af Pendulet, 46 Gange i 1 Minut.

Ved de her omhandlede Forsøg gik Uhrværket hele Tiden med Pendul. Til hver Undersøgelse blev der taget et af de ikke luftede Kar; for den luftede Vædskes Vedkommende bleve de nødvendige Prøver tagne af Karret, hvori Uroen fandt Sted, og med Undtagelse af den Ubetydelighed, der krævedes til Tællingen, straks heldte tilbage. Resultaterne af to saadanne Forsøgsrækker ere fremstillede i nedenstaaende Tabeller. I den første Forsøgsrække var Værelsets Temperatur 12—14 og i den anden 13—16° C.

Sammenligne vi i Tabel I Forholdet i det ikke luftede Kar d. 25. Mai om Aftenen med Forholdet i det luftede 24 Timer tidligere, saa finde vi, at de to Kar til de nævnte Tider begge have indeholdt en gjærende Urt med c. 6,9 % Extrakt; men medens der til at forgjære c. 3 % har været anvendt 24 Timer mere i det ikke luftede end i det luftede Kar, saa har, som det tydeligt ses af de opgivne Tal, i sidstnævnte Tilfælde Gjæringsarbejdet været fordelt paa et langt større Antal Gjærceller. Paa den ene Side have vi altsaa den længere Tid og det ringere Antal Gjærceller, paa den anden derimod en kortere Tid og et større Antal Gjærceller til Udførelsen af det samme Gjæringsarbejde. Lignende Slutninger komme vi til, naar vi prøve den anden Tabel, navnlig hvis vi sammenligne den luftede og den ikke luftede Urt paa de Stadier, hvor begge indeholdt en Extraktrest af 7,38 %. Disse og andre af mig udførte Forsøg vise overhovedet, at der under Luftningen avles en større Mængde Celler samtidig med at Gjæringen foregaar hurtigere og Gjærcellernes Gjæringskraft synes at formindskes, idet der ved Udførelsen af det samme Gjæringsarbejde da optræder flere Gjærceller.

Undersøgelserne ved Hjælp af det forbedrede Apparat have altsaa bragt samme Hovedresultat som de tidligere her paa Laboratoriet og de fleste andensteds anstillede[1]). Det tør sikkert nu ogsaa betragtes som godtgjort, at Gjærceller, som have rigelig Adgang til Luftens Ilt, desuagtet kunne fremkalde Gjæring. At deres stærke Formering under Luftningen ikke alene skyldes de indblæste Luftstrømme, men ogsaa i meget høj Grad er betinget af Omrøringen, læres af den følgende Meddelelse om Horvath's Hypothese. Den sidstnævnte Methode (Omrøring uden Luftning) vil maaske med Fordel kunne benyttes til Gjæravl i det Store i Gjærfabrikkerne.

Af de i Tabellerne opførte Tal ses det, at den stærkeste Formering har fundet Sted i det første Tidsafsnit (12 Timer); dette gjælder for begge Forsøgene. Den stærkeste Forgjæring ind-

[1]) Nägeli kom til et afvigende Resultat; se Theorie der Gärung, 1879, p. 19—26.

Tabel I.

Tiden.	Ikke-Luftning. Vægtprocent (Balling).	Forgjæret Extrakt.	Gjærcellernes Antal i den valgte Rumenhed.	Gjærcellernes Forfoldigelse.	Luftning. Vægtprocent (Balling).	Forgjæret Extrakt.	Gjærcellernes Antal i den valgte Rumenhed.	Gjærcellernes Forfoldigelse.
		%				%		
23 Maj. Kl. 8 M.	10	0	41	1	10	0	41	1
do. Aften	9,67	0,33	126	3	9,51	0,49	140	3,4
24 Maj. Morgen	9,18	0,82	179	4,3	8,78	1,22	387	9,4
do. Aften	8,49	1,51	218	5,3	6,91	3,09	960	23,4
25 Maj. Morgen	7,68	2,32	375	9,1	4,95	5,05	1274	31
do. Aften	6,99	3,01	465	11,2	3,99	6,01	1470	35,8

Tabel II.

		%				%		
28 Maj. Kl. 8 M.	10	0	55	1	10	0	55	1
do. Aften	9,34	0,66	135	2,4	9,26	0,74	250	4,5
29 Maj. Morgen	8,47	1,53	279	5	7,38	2,62	800	14,5
do. Aften	7,38	2,62	336	6,1	4,73	5,27	1400	25,4
30 Maj. Morgen	6,40	3,6	405	7,3	4,04	5,96	1498	27,2
do. Aften	5,58	4,42	495	9	3,98	6,02	1505	27,3

traadte derimod senere; i det første Forsøg nemlig i det 4de og i det sidste i det 3dje Tidsafsnit.

Ved Undersøgelser som de foreliggende, gaar man ud fra den vistnok rimelige Antagelse, at enhver levende Gjærcelle kan betragtes som tagende Del i Gjæringsarbejdet; men i Virke-

ligheden vide vi ikke, om Gjærcellen paa alle Stadier af dens Liv er gjæringsvækkende, lige fra den første Stund, da den som en lille Knop træder frem, og indtil den som gammel Celle selv har udskudt Knopper.

V.
Horvath's Hypothese.

For kort Tid siden er en russisk Fysiolog, Horvath, traadt frem med en mærkværdig Meddelelse om Opdagelsen af en ny, hidtil ikke paaagtet Lov for Organismernes Verden[1]). Dels gjennem almindelige Betragtninger og dels gjennem Experimenter, som bleve udførte i Claude Bernard's Laboratorium, kommer han til det Resultat, at de levende Skabninger til deres Udvikling og Formering kræve en vis Ro. Heri vilde de Fleste sikkert være enige med ham, og det Samme gjælder, om han havde sagt det Modsatte, nemlig at der kræves en vis Uro, Bevægelse. Den Slags Sætninger sige overhovedet Alt og dog egentlig Intet. Jeg skal derfor ikke opholde mig længere derved, men strax gaa til Afhandlingens Kjærne, Experimenterne og de deraf umiddelbart udledede Resultater. Til en klar Næringsvædske satte han et Par Draaber bakterieholdig Vædske, hvilke dog ikke frembragte nogen Uklarhed. Denne Blanding blev heldt i Glasrør, som fyldtes halvt dermed og derpaa bleve godt lukkede. Den indesluttede Luft skulde levere den til Udviklingen nødvendige Iltmængde. Nogle af disse Rør lod han ligge i Ro, andre bleve derimod horizontalt fastgjorte paa et Brædt, der i horizontal Retning blev drejet 100—110 Gange rundt i Minutet. Desuden modtog det ved en særegen Indretning Extrastød, som rystede Vædsken endnu heftigere. Ifølge Forfatterens Meddelelse viste det sig, at en i 24 Timer saaledes fortsat Bevægelse hindrede Bakteriernes Formering uden dog at tilintetgjøre denne Evne; dette skete derimod, naar Bevægelsen blev fortsat i 48 Timer. Som Bevis for, at der ikke fandt nogen Formering Sted af de udsaade Bakterier i de rystede Glas, anføres, at Næringsvædsken her for-

[1]) Horvath, Ueber den Einfluss der Ruhe und der Bewegung auf das Leben. (Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, 17 B., 1878, p. 125).



blev aldeles klar, endog efterat den i Varmekassen havde været udsat for en Temperatur af 25—30° C. i over 48 Timer. De ikke rystede, men ellers paa lignende Maade behandlede Glas i Parallelforsøget fik derimod hurtigt en uklar Vædske, hvilket tilskrives Bakteriernes Formering. Forfatterens Mening hermed er, saavidt jeg kan skjønne af hans ikke meget klart affattede Afhandling, at Ro fremmer, og Bevægelse overhovedet hindrer Bakteriernes Udvikling. Og dette Hovedresultat er han tilbøjelig til at overføre paa Organismernes Verden i Almindelighed.

Efterat jeg i min Doktordisputats »Organismer i Øl og Ølurt« havde leveret et Bidrag til Belysning af den omtalte Hypothese udkom Nägeli's Theorie der Gärung. I dette Skrift skjænkes Horvath's Arbejde en temlig udførlig Omtale og Kritik, p. 88—93. Der gjøres blandt andet opmærksom paa, at det ikke er rigtigt, naar Horvath paastaar, at der ingen Udvikling af Organismer finder Sted i stærkt rindende Vand, og der vises hen til de Alger, som i naturlig Tilstand uden Skade for deres Ernæring og Forplantelse endog udholde Rystelser, som ere meget stærkere end dem, Horvath frembragte med sit Apparat. Naar denne i sine Forsøg med Bakterier erholdt de meddelte Resultater, mener Nägeli, beror dette ikke paa den fremkaldte Bevægelse, men maa snarere være betinget af andre Omstændigheder f. Ex. af Vædskens Sammensætning og af en Forhøjelse af dens Temperatur. Til Slutning betegnes Spørgsmaalet som værende af høj fysiologisk Interesse, men den givne Oplysning som tvivlsom.

Horvath benyttede Bakterier til sine Experimenter, navnlig fordi det med disse er muligt i en klar Næringsvædske at konstatere, om de have formeret sig eller ej. I samme Grad, som Formeringen er livlig, bliver nemlig Vædsken uklar. Et ligesaa gunstigt eller endog gunstigere Objekt er imidlertid Gjærsvampen Saccharomyces cerevisiæ, især naar det af Hayem og Nachet konstruerede Hæmatimeter benyttes til at bestemme Cellernes Formeringshastighed. Nedenfor meddeles en Oversigt over de Experimenter, som jeg i den nævnte Retning foretog, og hvortil jeg benyttede Hæmatimetret og det foran beskrevne Omrøringsapparat, men naturligvis uden Luftindblæsning. Det er Hr. Prof. Panum, som først gjorde mig opmærksom paa Horvath's Hypothese og opfordrede mig til at prøve den.

Forsøg i Sommeren 1878:

Til 1 Liter Siposeurt (Extrakt 10% Ball.) blev der sat 2 Kub.-Centim. tykflydende, ren Gjær (Undergjærformen af Saccha-

romyces cerevisiæ fra Bryggeriet), som blev godt omrørt, derpaa anbragtes Halvdelen af denne Blanding i Glasset med Omrøringsapparatet (p. 266, Fig. 1) og Resten i et almindeligt Cylinderglas af samme Form og Størrelse, hvilket til Sammenligning blev stillet ved Siden af det første; dette betegnes her og i de følgende Experimenter med A, det sidst omtalte med B. Glassene bleve foroven dækkede med Glasplader og Uhrværket sat i Gang, hvorved Gjærcellerne i A bestandigt bleve holdte i Uro og uafbrudt omtumlede i Vædsken. Begge Glassene bleve, som man ser, saa vidt muligt behandlede paa selvsamme Maade, kun med den Forskjel, at Gjærcellerne i det ene, A, ideligt bleve rørte om, medens de derimod i det andet, B, fik Lov til at passe sig selv. Ved Forsøgets Begyndelse fandtes 45 Celler i den valgte Rumenhed, saavel i A som i B, og ved dets Slutning, 96 Timer senere, i A 1374, i B 696. I A var altsaa Forfoldigelsen 30,5, i B 15,4. Extraktm. i A var 3,9, i B 4,2 % Ball. Ved efter Forsøgets Slutning ogsaa at bestemme Gjærens Tørvægt fra de to Kar, fandtes den i A at være 1,8 Gange saa stor som i B, hvilket paa det Nærmeste stemmer overens med Forholdet imellem de to ovenfor nævnte Tal 1374 og 696. Værelsets Temperatur var 16—20° C. Om Dagen gik Uhrværket uden, om Natten med Pendul. Da jeg gjentog Experimentet, fremkom der et lignende Forholdstal.

Forsøg i Sommeren 1879:

15 Maj bleve ovenstaaende Forsøg gjentagne; der fandtes da 50 Celler i den valgte Rumenhed saavel i A som i B og 96 Timer senere i A 1260, i B 460; Forfoldigelsen var følgelig i det ene Tilfælde 25,2; i det andet 9,2. I A var Extraktmængden 4,2, i B 4,9 % Ball. Gjærens Tørvægt i A var 1,47 Gange saa stor som i B, altsaa noget mindre end Gjærcellernes Forholdstal i de to Kar, $\frac{1260}{460} = 2{,}74$, hvilket finder sin Forklaring deri, at der blev dannet en stor Mængde meget smaa Celler i A. Værelsets Temperatur var 9—15° C.

24 Maj gjentoges de foranstaaende Forsøg, dog med den Forskjel, at der til hvert Glas blev sat 1 Liter Urt med 42 Celler i den valgte Rumenhed. 96 Timer derefter fandtes i A 1043, i B 552 Celler i Rumenheden, hvilket giver et Forholdstal af 1,8; Forfoldigelsen i A var altsaa 24,8, i B kun 13,1; dog stod Uhrværket flere Gange. Værelsets Temperatur var 14—17° C.

1 Juni gjentoges Forsøgene atter, men med en mere extraktrig Urt (13,55 % Ball.), hvoraf 1/2 Liter blev heldt i hvert Glas.

Uhrværket gik hele Tiden med Pendul, og der fandt ingen anden Standsning Sted end den, Optrækningen gjorde nødvendig. Ved Forsøgets Begyndelse fandtes 36 Celler i den valgte Rumenhed saavel i A som i B og ved dets Slutning 48 Timer senere i A 1064, i B 420; Forfoldigelsen i det førstnævnte Glas var følgelig 29,5, i det sidstnævnte 11,6, og Forholdstallet mellem Gjærcellerne i de to Kar $\frac{1064}{420}$ = 2,5. I A var Extraktmængden 5,43, i B 8,8% Ball. Værelsets Temperatur var 13—15° C.

Den ved Gjærcellernes Tælling valgte Rumenhed var den samme i ethvert Tilfælde, og alle Forsøgene bleve anstillede i det mørke Værelse.

De meddelte Tal vise, at Gjærcellerne bestandigt have formeret sig stærkere i A end i B; men ifølge Horvath's Hypothese skulde vi have ventet det Modsatte. Hvad enten dette nu skyldes selve Omrøringen eller maaske tillige den derved i Vædsken fremkaldte Omflytning og jævnere Fordeling af Næringsdelene, saa staar det fast, at ikke Ro, men Bevægelse i høj Grad har fremmet Formeringen, og dette er Spørgsmaalets Pointe. Indblandingen af Luft under Omrøringen er saa forsvindende, at den næppe kan have havt nogen Indflydelse, og at Forholdet ikke beror paa en kjendelig Forhøjelse af Temperaturen i den omrørte Vædske, overbeviste jeg mig om ved at foretage omhyggelige Maalinger med et fint Thermometer. Af den mikroskopiske Undersøgelse fremgik det, at den paasatte Gjær var helt fri eller næsten fri for fremmede Organismer, og det Samme var Tilfældet ved Experimenternes Slutning, hvor Cellerne i A og B tilmed havde samme Udseende.

Det er den almindelige Anvendelse, Horvath gjør af sin nye Lære, som jeg har underkastet en Prøve gjennem de meddelte Experimenter. Om de af ham specielt med Bakterier anstillede Forsøg kan jeg Intet sige, da jeg ikke har havt det nødvendige Apparat til min Raadighed. Den af Nägeli udtalte Tvivl desangaaende er berørt i det Foregaaende. Selv om vi ikke rent ud ville forkaste Horvath's Hypothese, saa bliver Resultatet alligevel dette, at den ikke uden videre kan gjælde, og at Sacch. cerevisiæ i Ølurt formerer sig stærkere under Omrøring end i Ro.

VI.

Myc. aceti (Kütz.) Pasteur og Myc. Pasteurianum nov. sp.

(Hertil Tavle II. Fig. 60—70).

Naar vinaandholdige Vædsker, som f. Ex. Øl og Vin, ved en ikke for lav Temperatur udsættes for Luftens direkte Paavirkning, blive de efter kortere eller længere Tids Forløb sure, og man vil i Reglen kunne paavise Eddikesyre deri. Der har da fundet en Oxydationsgjæring Sted, hvorved Vædskernes Alkohol er bleven forbrændt til Eddikesyre og Vand. Pasteur har lært os, at denne Gjæring skyldes en af de mindste Organismer, som hidtil er bleven opdaget, og han beskriver og afbilder den under Navnet Mycoderma aceti; men om vi staa overfor en rent kemisk-fysisk eller en fysiologisk Proces, derom lades vi noget i Tvivl. Den store Forsker udtaler sig her ikke saa tydeligt og bestemt, som han ellers plejer, og idet han sammenligner den omtalte Organismes Virksomhed under Alkohollens Iltning med Platinsvampens[1]), kunde man fristes til at tro, at han i Samklang med Liebig mener, at Ilten mekanisk overføres. Paa andre Steder synes derimod hans Mening at være den, at Processen er af fysiologisk Natur. Denne Opfattelse have Adolf Mayer og Knieriem[2]). Sikkert er det i ethvert Tilfælde, at Eddikesyredannelsen kan foregaa og i Almindelighed foregaar ved Organismers Indvirkning. Det er om disse, at jeg i det Følgende skal tillade mig at give nogle Oplysninger.

I det foregaaende Afsnit meddelte jeg, hvorledes jeg havde udfundet et Middel til at fremstille, hvad jeg ifølge mine Undersøgelser maa kalde Renkulturer af Mycoderma aceti. Vi erfarede da, at Carlsberg Lagerøl eller lignende undergjærede Ølsorter, naar de i aabne Glas bleve satte ind i Thermostaten ved 30—34° C., efter et Par Dages Forløb dannede Hinder; disse bestaa fornemlig af de for den nævnte Art typiske Kjeder (Fig. 61) men herimellem findes ogsaa nogle af de i Fig. 64 afbildede traadformige og uregelmæssigt opsvulmede Legemer, hvis Form, Størrelse og hele Udseende er meget vexlende, hvilket et Blik paa Figurerne tydeligt viser. Betragte vi saadanne som b, f og g for sig, saa kunne vi neppe tro, at de ligesom Kjederne henhøre til Mycoderma aceti, men ved nøjere Eftersyn finde vi snart Exemplarer, der ere i Færd med at

---

1) Pasteur, Études sur le vinaigre, 1868, p. 72.

2) W. v. Knieriem und Adolf Mayer, Ueber die Ursache der Essiggährung (Die landwirthschaftl. Versuchs-Stationen, B. XVI, 1873, p. 305).



dele sig i Led, som ligne de typiske Kjeders, og ere vi først naaede op til Former som a og i, saa har Tanken ikke længere Besvær med at betragte dem som Overgangsformer til Kjederne. At Sagen dog ikke hermed er bevist, følger af sig selv. Ved de Infektionsforsøg, som jeg anstillede, optraadte de i Fig. 64 afbildede Former imidlertid, ogsaa naar jeg til Udsæd kun benyttede typiske Kjeder, hvilket har større Vægt end det første Bevis og i Forening med dette gjør Rigtigheden af min Opfattelse højst sandsynlig; i det Følgende fremføres andre Grunde. Ikke sjeldent fandt jeg Kjeder som den i Fig. 70 afbildede, i hvilke de mindre Led vare stærkt lysbrydende og de større i enkelte Tilfælde udstyrede med en tydelig Væg. Ogsaa stærkt lysbrydende, smaa, næsten kuglerunde Legemer (Sporer?) fandt jeg inde i Leddene (Fig. 66). Det vil sige en hel Række Bygningsforhold, hvorom mine Forgængere Intet meddele.

Til mine Studier hørte ogsaa Undersøgelsen af, hvorledes forskjellige kemiske Reagenser indvirke paa Mycoderma aceti; herved blev jeg opmærksom paa, at der i nogle mikroskopiske Præparater, indeholdende en Vegetation af smukke Kjeder, viste sig en blaa Farve, naar jeg tilsatte Jod, medens den derimod i andre blev gul. Det er en Selvfølge, at jeg forfulgte dette interessante Forhold videre. Der opstod strax det Spørgsmaal, om de af Jod blaat farvede Kjeder, trods deres fuldstændige ydre Lighed med de gult farvede, vare en selvstændig Art, eller om de kun dannede en ejendommelig Modifikation; Forholdene kunde tale saavel for den ene som for den anden Anskuelse. De to Former stemmede forøvrigt i den Grad overens, at jeg har kunnet citere de samme Figurer for begge; se Forklaring over Tavlerne. Spørgsmaalets Besvarelse opnaaede jeg ved Hjælp af de oftere omtalte Renkulturer.

Ved at udsætte Carlsberg Lagerøl i aabne Glas for en Temperatur af 30—34° C. fik jeg som sædvanligt Hinder, bestaaende af den Art, som jeg fra Begyndelsen af havde kaldt Mycoderma aceti, og som farves gul af Jod. Vædsken var bestandig klar og eddikesur. Disse Hinder bleve nu benyttede til Udsæd paa Lagerøl i Flasker, som derefter hurtigt bleve overbundne med Filtrerpapir, der kort i Forvejen var trukket igjennem en Flamme; herved forhindrede jeg fremmede Legemer udenfra at komme ind i Flasken. Den samme Fremgangsmaade anvendte jeg med de af Jod blaat farvede; kun blev Udsæden i dette Tilfælde ikke tagen fra Lagerøllet, thi her udviklede de sig aldrig spontant, men derimod fra kjøbenhavnsk Hvidt- og Dobbeltøl. Alle Flaskerne bleve efterhaanden stillede ind i Thermostaten ved den fundne gunstige Temperatur, c. 33° C.;

denne viste sig nemlig ogsaa at være heldig for den Form, der farves blaa. I de talrige Udsaaningsforsøg, som jeg saaledes anstillede med de to Former hver for sig i Parallelrækker, fik jeg bestandigt, naar jeg kun vaagede over, at de to Former ikke bleve sammenblandede i Udsæden, Renkulturer af den, der af Jod farves blaa, forsaavidt denne var udsaat, og i modsat Tilfælde af den, der farves gul. Og dette gjentog sig, uagtet jeg fortsatte disse Forsøg i et Par Maaneder og hertil benyttede forskjellige Ølsorter.

De af Jod blaat farvede Hinder bestode ligesom de, der farvedes gule, dels af Kjeder med deres forskjelligt udseende Led, store, smaa, matte, stærkt lysbrydende, cylindriske, timeglasformede, kuglerunde o. s. v. (Fig. 61, 65, 66, 70) og dels af de i det Foregaaende beskrevne uregelmæssige, traadformede Legemer (Fig. 64) samt endelig af de i Fig. 63 fremstillede Celler med tydelig Væg, og hele dette brogede Indhold blev uden Undtagelse farvet blaat af Jod, hvilket er et Tegn paa, at de fremstillede Former, (Fig. 60—70) høre genetisk sammen. Denne Betragtningsmaade støttes desuden derved, at alle de øvrige, hidtil iagttagne Bakterier i Øl og Ølurt farves gule af det nævnte Grundstof. Alt Dette viser hen til, at jeg har havt to vel adskilte Arter for mig, og at jeg har opnaat at fremstille Renkulturer af hver af disse. Min nye Fermentorganisme tillader jeg mig at indføre i Systematikken under Navnet Mycoderma Pasteurianum efter Banebryderen paa hele dette Omraade. Skjøndt de to Arter hidtil rimeligvis ofte ere blevne sammenblandede, er det dog mest sandsynligt, at Pasteur og de øvrige Forskere ved Myc. aceti kun have forstaaet den, som af Jod farves gul.

For yderligere at prøve Rigtigheden af det Nye, jeg har ført frem, besluttede jeg ogsaa at undersøge, hvorledes de to Arter vilde forholde sig paa Urt som Næringsvædske. I den Anledning benyttede jeg dels Pasteurske Kolber, dels Kogeflasker, $^{1}/_{4}$ fyldte med stærkt kogt og derved steriliseret Siposeurt. Flaskerne bleve behandlede som ovenfor er beskrevet, p. 188. Jeg benyttede oftere Flaskerne end Kolberne, fordi hine give de udsaaede Mycoderma-Arter rigeligere Adgang til Luftens Ilt end disse og derved betinge en kraftigere Vegetation. I ethvert Tilfælde anvendte jeg kun saadanne, som havde staaet i længere Tid i Thermostaten, og om hvis Indhold jeg med Bestemthed vidste, at det var fuldstændigt steriliseret. Heri blev nu med den Forsigtighed, som Pasteur har lært os, udsaat typiske Kjeder af de to Arter hver for sig, hvorpaa Kolberne atter bleve lukkede med deres tilhørende Glaspropper, og Flaskerne med Filtrerpapiret, og derefter indsattes alle i Thermo-

staten ved c. 32° C. Ligesom i de foregaaende Tilfælde holdt de to Arter sig skarpt adskilte, og de optraadte begge med de i Fig. 60—70 afbildede Former. I Vegetationer, tilhørende Myc. Pasteurianum, viste ikke blot Kjederne og de særskilte Led som sædvanligt den oftere omtalte meget karakteristiske kemiske Reaktion ved Tilsætning af Jod, men dette gjaldt ogsaa uden Undtagelse om Traadene. Vægtige Grunde tale altsaa for, at alle disse indbyrdes forskjellige Former høre sammen i een Udviklingscyklus; men det vil da ikke heller længere kunne anses for en Dristighed at overføre denne Betragtningsmaade paa Myc. aceti.

Til et aldeles fyldestgjørende Bevis for, at Traadene have samme Udspring som Kjederne, hører imidlertid en umiddelbar Iagttagelse af den ene Forms Udvikling til den anden; dette opnaas ikke gjennem afspærrede Massekulturer efter Pasteurs Methode, men kun ved Kulturer af det enkelte, bestemte Exemplar i et fugtigt Kammer. Disse to Fremgangsmaader bør overhovedet bestandigt kombineres.

Naar jeg endnu ikke har givet et saadant Bevis, saa er Aarsagen ikke, at jeg undlod at prøve derpaa, men at mine Bestræbelser paa dette Punkt mislykkedes. Dette gjælder nemlig om alle de Kulturforsøg, som jeg i fugtige Kamre anstillede med Myc. aceti; dog gjentog jeg dem ofte og varierede dem paa forskjellig Maade, f. Ex. ved at prøve flere Næringsvædsker og ved Indledning af atmosfærisk Luft og Ilt. De ligge imidlertid langt tilbage i Tiden, og det er muligt, at Aarsagen til mit Uheld maa søges deri, at jeg ikke var i Besiddelse af den Færdighed og Omsigt, som saadanne Experimenter kræve; de høre nemlig til de vanskeligste, dels paa Grund af Cellernes yderst ringe Størrelse, dels som en Følge af de store Krav til fri Ilt, som de under deres Udvikling stille, og endelig fordi det er deres Natur at udvikle sig paa Vædskers Overflade. Jeg blev tilsidst saa træt af disse frugtesløse, men dog ofte anstrengende Forsøg, at jeg nødtvungen opgav dem for en Tid.

Da jeg havde fundet min nye Fermentorganisme, gjenoptog jeg Dyrkningsforsøgene med denne dels i Ranvier's og dels i Böttcher's Kamre; som Næringsvædske benyttede jeg Carlsberg Lagerøl. Denne Gang var jeg noget heldigere, dog er det endnu ikke lykkedes mig at gjennemføre Experimentet. Jeg har vel en Række Iagttagelser liggende med tilhørende Figurer, men da jeg paa flere Punkter ikke er aldeles sikker i min Sag, saa meddeler jeg her kun et Par smaa Bidrag, om hvis Rigtighed der ingen Tvivl er. Det viste sig, som man kunde vente, at Cellerne førend Tværdelingen tiltoge i Størrelse, navnlig i Længde; herved

forandrede en Kjedes Medlemmer Stilling, saa at der fremkom Knæk og Bugtninger (Fig. 68') og i nogle Tilfælde lagde de sig op til hinanden som Tagsten paa et Hus (Fig. 67'). Delingen, fandt jeg, indtraadte efter 5, 4 eller 2 Timers Forløb. De stærkt lysbrydende Led forbleve uforandrede, ogsaa naar de i 60 Timer udsattes for en Temperatur af omtrent 30° C.; herved bleve imidlertid de i Begyndelsen matte Led stærkt lysbrydende. Lange, rette Kjeder optraadte ikke i de iagttagne Celledelinger, men derimod bugtede og knækkede, og tilsidst under den fortsatte Formering en uordentlig Sammenhobning af Celler. Fig. 68—68''' viser f. Ex. hvorledes en kort, lige Kjede først under Celledelingen blev knækket og endelig tilsidst forvandlet til en Cellegruppe; det glindsende, yderste Led tilvenstre delte sig ikke, men holdt sig uforandret. Disse Forsøg (Fig. 67—69'') bleve foretagne i et Værelse, hvis Temperatur var c. 17° C.

Der frembyder sig her navnlig følgende Spørgsmaal: Hvorledes opstaa Kjederne? Ere de stærkt lysbrydende, runde Legemer Sporer? Og hvis saa er, hvorledes spire de, og hvilken Form udvikle de? Det forudsættes almindeligt, at Kjededannelsen fremkommer ved de enkelte Leds Tværdeling, men sikker Oplysning om Udviklingsgangen haves ikke.

Den blaa Farvning af Myc. Pasteurianum optræder ikke blot, naar man til Præparatet sætter Jodkrystaller, men ogsaa ved Tilsætningen af forskjellige Jodopløsninger, som f. Ex. Jod-Jodkalium. Det er bestandigt kun en Bræmme i Udkanten af den fremstrømmende Jodforbindelse, der farves blaa, medens det indenfor værende Parti bliver grønt, gult og endelig brunt; hvad der til et vist Tidspunkt har været blaat, vil et Øjeblik efter, naar Jodstrømmen er rykket videre frem, blive gult og tilsidst brunt. Paa det Stadium, hvor Cellerne have modtaget en gul eller brun Tone, er det ikke muligt at bestemme, om den farvede Mycodermaart hører til Myc. aceti eller Myc. Pasteurianum. Ved at trykke et af Jod farvet Præparat, indeholdende sidstnævnte Art, temmelig stærkt saaledes, at Dækglasset gnides mod Objektglasset, vil man i Reglen erholde tynde, udmasede, smukt blaat farvede Hinder; der findes da ikke længere blaatfarvede Celler, men kun gult- og bruntfarvede; disse have været mest udsatte for Jodens Paavirkning og ere herved blevne stærkere, fastere, saa at de kunne udholde et større Tryk end de førstnævnte. Den blaa Farvning forudsætter altsaa, at Jodopløsningen har havt en vis Concentration, og at den ikke har indvirket for længe.

Det ved Tilsætning af Jod eller af en Jodforbindelse fremkomne blaa Stof stemmer foruden i Henseende til Farven ogsaa i andre

Retninger overens med Jodamylum. Det affarves saaledes af Ammoniak, Natron eller Qvægsolvtvechlor, ligeledes naar det, efterat der er tilsat lidt destilleret Vand, udsættes en kort Tid for Luftens direkte Paavirkning. Disse Reaktioner tyde paa Amylum eller et nærstaaende Kulhydrat, maaske en Art Cellulose, der ret hyppigt findes i Ascomyceternes Gruppe i Parafyser og Asci; jeg har saaledes selv iagttaget det hos de af mig i sin Tid beskrevne nye Arter af Slægterne Ascophanus og Saccobolus [1]).

Den af Trécul i Aaret 1865 opdagede og af Ph. van Tieghem senere udførligere beskrevne Bacillus Amylobacter [2]) skal paa visse Udviklingsstadier i sine cylindriske Led paa isolerede Punkter have Indlejringer af Stivelse, der farves blaa eller violette af Jod. Det er denne interessante Organisme, som man væsentlig tilskriver Destruktionen af raadnende Planters Cellulosevægge. Ogsaa Fitz [3]) fandt en Bacil, der delvis blev farvet violet eller sort af Jod; den synes nærmest at henhøre til Tréculs ovennævnte Art. Ellers har jeg ikke hos Bakterierne fundet Exempler paa denne mærkværdige kemiske Reaktion.

Carlsberg Lagerøl og Beer vedblive at være klare og uden Affarvning, naar deres Overflade dækkes med en Hinde, der udelukkende bestaar af Myc. Pasteurianum, og Vædsken har da tydelig Lugt af Eddikesyre. I denne Retning stemmer den nye Art altsaa overens med Myc. aceti. Ligesom hos denne gjælder det ogsaa her, at Vædsken bliver uklar, affarvet, saasnart der indsniger sig fremmede Bakterieformer, og heri haves følgelig en Art Kontrol til at bestemme, om man har en Renkultur for sig eller ej.

Det var første Gang i kjøbenhavnsk Hvidtøl og sødt Dobbeltøl, at jeg fandt Myc. Pasteurianum, og den synes efter de Forsøg, som jeg anstillede, især at være knyttet til saadanne Ølsorter med forholdsvis stor Extrakt- og ringe Alkoholmængde. Den udvikler sig sikkert ogsaa med større Lethed i Urt end dens nære Slægtning Myc. aceti. Sidstnævnte Art har jeg hyppigst fundet i undergjæret, alkoholrigt Øl, og i Eddike fandt jeg den ligeledes; men aldrig Myc. Pasteurianum. Dette gjælder ogsaa om mine Undersøgelser

---

1) Emil Chr. Hansen, De danske Gjødningssvampe (Videnskabl. Medd. fra den naturh. Foren. i Kjøbenhavn, 1876, p. 290 og 293, Tavle VI, Fig. 1—8 og Fig. 23).

2) Ph. van Tieghem: Sur le Bacillus Amylobacter et son rôle dans la putréfaction des tissus végétaux (Bulletin de la société botan. de France, 1877).

3) Fitz, Ueber Schizomyceten-Gährungen, III (Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., 1878).

af Mæskningen og Spaanerne i de Eddikebryggerier paa Christianshavn, jeg havde Lejlighed til at besøge. Ved Infektionsforsøgene har det vist sig, at begge Arter kunne udvikle sig saavel i Urt som i over- og undergjæret Øl. I Lagerøl og Urt, der i nogle Tilfælde bleve gjorte alkaliske, i andre neutrale ved Tilsætning af Ammoniak eller Natron, fandt ingen Udvikling Sted hverken af den ene eller den anden af de to Arter. I et Glas med Siposeurt, der var gjort alkalisk ved Tilsætning af Natron og inficeret med Myc. Pasteurianum, optraadte dog en Hinde med en i det Hele typisk Vegetation af den udsaade Art, og Vædsken gav sur Reaktion paa Lakmospapir. Dette staar imidlertid som en Undtagelse, jeg endnu ikke forstaar, men som jeg en Gang vil studere nærmere.

Af de Undersøgelser, som Boutroux[1]) har foretaget i Pasteur's Laboratorium, synes det at fremgaa, at Mælkesyrefermentet og Myc. aceti ere en og samme Organisme, hvis Funktioner vexle med Sammensætningen af Næringsvædsken. Førend jeg læste Beretningen derom, havde jeg anstillet Forsøg, som viste i samme Retning, men ved at variere disse fik jeg andre Resultater. Studierne over de to omhandlede Fermentorganismer blive imidlertid fortsatte her paa Laboratoriet, og min Kollega, Hr. Kjeldahl, har godhedsfuldt lovet at behandle Spørgsmaalenes rent kemiske Sider.

Hovedresultaterne af den foregaaende Undersøgelse ere følgende:

1. Mycoderma aceti og Myc. Pasteurianum ere to Fermentorganismer, der morfologisk ikke kunne skjelnes fra hinanden, og som sikkert ogsaa hidtil ere blevne sammenblandede. I Henseende til kemisk Reaktion ere de dog skarpt adskilte, idet denne farves blaat og hin gult af Jod.
2. Til hver Arts Formkreds høre ikke blot de af Pasteur fremstillede typiske Kjeder med deres ofte timeglasformede Led, men tillige uregelmæssige, traadformede Legemer og kort sagt alle de i Fig. 60—70 afbildede Former. For Rigtigheden af denne Opfattelse taler disses samtidige Optræden, Tilstedeværelsen af Overgangsformer, de af mig anstillede Udsaaningsforsøg og den fælles kemiske Reaktion; denne faar navnlig for de af Jod blaatfarvede Formers Vedkommende en særlig Beviskraft, fordi en saadan ikke hidtil er iagttagen hos andre Bakterier i Øl og Ølurt.

[1]) Boutroux, Sur la fermentation lactique (Comptes rendus, Tome LXXXVI, 1878, Mars).



FORKLARING OVER TAVLERNE.

(Broktallene betegne Forstørrelsen.)

TAVLE I.

OIDIUM LACTIS Fres. Fig. 1—19, p. 226 og p. 235—253.

1. Hyfer med Gaffeldeling i Spidsen og begyndende Udvikling af Sidegrene. Habitusbillede tegnet ved Hjælp af Obj. D. D. Zeiss.
2. $\frac{620}{1}$. To Ender af Hyfer, hvoraf den ene viser en begyndende Dikotomi, og den anden er i Færd med at afsnøre et kuglerundt Led.

3—5. Fire Konidier med Spiretraade, tegnede ved Hjælp af Obj. D. D. Zeiss. 3. Alt Protoplasmaet er vandret ud i Spiretraadens yderste Del, som allerede har begyndt at afsnøre Konidier. 4. Konidien har her udsendt en mindre og en større Spiretraad, hvoraf sidstnævnte har delt sig nær Udspringsstedet. I intet af disse to Tilfælde tiltog Spiretraaden i Længde eller forgrenede sig. 5. To Konidier, som ligne Gjærceller, og som hver udsende to Spiretraade.

6—6‴. $\frac{620}{1}$. En Konidies Spiring, fremstillet gjennem flere Stadier. 6. Konidien udsaaet i Siposeurt (filtreret Humleurt) i Ranvier's Kammer Kl. $10^1/_2$ Form. 6′. Samme Kl. 2 Efterm. Den er ikke blot bleven lidt større, men har ogsaa fra hver Ende udviklet et vorteformet Anlæg til Spiretraad; denne danner en umiddelbar Fortsættelse af Moderkonidien, paa hvis Væg der altsaa intet Brud findes. 6″. Samme Kl. $4^1/_2$ Efterm. Spiretraadene ere blevne større, og der er optraadt Vakuoler i Konidien. 6‴. Samme Kl. $7^3/_4$ Efterm. Saavel Konidien som ogsaa Spiretraadene have fremdeles tiltaget i Størrelse, og i sidstnævnte er der optraadt Tværskillevægge samt den første svage Begyndelse til Forgrening.

7. $\frac{1150}{1}$. En uregelmæssig, vinkelformet Konidie, som har udsendt en Spiretraad og selv indeholder Vakuoler.

8. Svag Forst. Vegetation af Oidium lactis paa en kogt Gulerodsskive. Den antager her et ejendommeligt Udseende og er i det foreliggende Tilfælde dannet af kegle- og børsteformede Legemer, der ere forholdsvis tykke ved Grunden og gulladne, med ofte mørkere Spidser.

9. Svag Forst. En lignende Vegetation, ligeledes paa en kogt Gulerodsskive. Denne var 6 Dage efter Udsæden bedækket med en hvidlig, gulladen Skov af mere eller mindre kegledannede Legemer, hvis Størrelseforhold og Form iøvrigt var meget forskjellig; undertiden var Spidsen krogformet ombøjet, a, undertiden trukken ud i en tynd Pidsk, b, eller i flere Grene, c, d, e, og ikke sjeldent havde to af de omtalte Legemer forenet sig ved Anastomose, f. De vare dels besatte med enkeltstaaende, fine Haar, a, b, c, d, f, dels med en tæt, hvid Filt, .e, der i enkelte Tilfælde var indskrænket til Spidsen, hvor den dannede ligesom en Fjerbusk, g. Imellem disse Legemer fandtes svagt glindsende, lidt slimede, hvidlige Foldninger, h, hvorfra Anlæggene til de kegledannede Legemer hævede sig som smaa, vorteformede Fremragninger.

10. Svag Forst. En lignende Vegetation, men paa usyret Brød; de kegledannede Legemer ere her gelatinøse, graaladne, men i de fleste Tilfælde besatte med en fin, hvid Filt af samme Art som den ved deres Grund.

11—14. $\frac{620}{1}$. Abnorme Former, som paa Grund af mangelfulde Ernæringsforhold ere fremkomne efter længere Tids fortsatte Kultur i Ranvier's Kamre. 11. En Hyfe, som har udskudt to Grene, hvoraf den nederste ender med to ovale Celler, som minde om en Saccharomyces. 12. En Hyfe, som ligeledes har to Grene, hvoraf den ene dog atter har grenet sig og ender med en meget stor, langstrakt pæreformet Celle. 13. En Hyfe med en primær Gren, som ender med en aldeles abnorm Celle, der nemlig fra en oval, større Basis udsender en fingerformet Forlængelse. Fra den primære Gren udskyder en sekundær i modsat Retning af hin. 14. Et Parti af en Hyfe med en Gren, der ved sit Udspring har en pæreformet Celle, derpaa to normale, rektangulære og endelig i Spidsen en kugleformet.

15—16. To Partier af Hyfer med interstitielle Konidier; kun disse ere fyldte med Protoplasma, medens de øvrige Celler derimod ere tomme. Paa Figurerne ere de protoplasmafyldte angivne med en mørkere Tone. De optraadte dels i Kulturer

paa Gulerodsskiverne, dels i de fugtige Kamre. Tegnede ved Hjælp af Obj. D. D. Zeiss.

17. $\frac{620}{1}$. Spirende Konidiekjede.

18. $\frac{620}{1}$. Konidier, som i længere Tid have ligget i Sukkervand; Indholdet bestaar af stærkt lysbrydende Legemer (Oliedraaber), og Væggen ses nu meget tydeligt.

19. $\frac{1180}{1}$. Konidier fra en i længere Tid fortsat Kultur i Gulerodsvand; Indholdet har dels trukket sig tilbage fra Væggen som en grynet, gulladen Klump med enkelte, stærkt lysbrydende Korn, a, dels som meget stærkt lysbrydende Kugler (Oliedraaber), b. I alle Tilfælde træder Væggen særdeles tydeligt frem i Modsætning til, hvad der finder Sted hos de unge Konidier. Et lignende Udseende faa de hyppigt, naar de dyrkes under mangelfulde Ernæringsforhold, og naar de blive gamle.

CHALARA MYCODERMA Cienk. Fig. 20—28, p. 226—227.

20. $\frac{620}{1}$. En grenet Hyfe, hvis Endeled afsnøre Konidier. (Fra en Hinde paa Planteinfusion).

21. $\frac{620}{1}$. En Hyfe, hvis Endecelle afsnører en Konidie. Fra den bagved liggende Celles, ved Tværskillevæggen nærmest værende Parti udspringer en kort tilspidset Sterigme, som har afsnøret Konidier. (Denne og de følgende Figurer af Chalara Mycoderma ere tegnede efter en Vegetation i Urt, som blev inficeret med Konidier fra Kogjødning.

22. $\frac{1180}{1}$. Et rektangulært Hyfeled, som fra to af sine Hjørner er i Færd med at afsnøre Konidier.

23. $\frac{1180}{1}$. Et Hyfeled, som fra sin svagt tilspidsede ene Ende udvikler to pæreformede Konidier.

24. $\frac{1180}{1}$. Et Hyfeled, som fra sin ene Ende udvikler tre Konidier, de to i Spidsen, den tredie lidt indenfor.

25. $\frac{1180}{1}$. Et pæreformet Hyfeled, som fra sit tynde Parti er i Færd med at afsnøre en oval Konidie.

26. $\frac{1180}{1}$. Et langstrakt, ovalt Hyfeled med halsformet Forlængelse, fra hvilken en abnorm Konidie afsnøres.

27. $\frac{1180}{1}$. Et kort, rektangulært Hyfeled, som fra sin ene Ende har begyndt at danne en Konidie.

28. $\frac{1180}{1}$. Et ovalt Hyfeled, som fra hver af sine Ender afsnører en næsten kuglerund Konidie.

SACCHAROMYCES CEREVISIÆ Meyen. Fig. 29—30, p. 227.

(Fra Kultur paa Gibsblok efter Engel's Methode).

29. $\frac{1180}{1}$. En cylindrisk Celle, indeholdende tre Sporer, hvis Indhold er farvet gult af Jod; herved træde Væggene særdeles tydeligt frem.

30. $\frac{1180}{1}$. En cylindrisk Celle, indeholdende to Sporer, i Forbindelse med en kølleformet, i hvis brede Ende der findes een Spore. Modercellernes Former viser nærmest hen til Saccharomyces Pastorianus, men Sporerne derimod til Sacch. cerevisiæ.

SACCHAROMYCES MYCODERMA (Pers.?) Reess. Fig. 31 p. 228.

31. $\frac{1180}{1}$. Gamle Celler; de indeholde hver to Vakuoler, i hvilke der i de fleste Tilfælde findes en Klump af smaa, stærkt lysbrydende, kantede Legemer, hvis Udseende minder meget om Krystaller.

TAVLE II.

RØDFARVEDE, GJÆRSVAMPELIGNENDE CELLER.

Fig. 1—37, p. 253—264.

1—3'''. $\frac{620}{1}$. Tre Udviklingsrækker af knopskydende Celler. Iagttagelserne ere gjorte ved en fortsat Betragtning af den enkelte, bestemte Celle i Ranvier's Kammer med Lufttilledningsrør og filtreret Humleurt som Næringsvædske. 1. Kl. $1^1/_4$: En Cellekoloni, hvor Modercellen har to tilspidsede, korte Spiretraade og to Væxtpunkter, det ene i Spidsen af den ene Spiretraad, det andet i Cellens modsatte, kuppelformede Ende; hver har udviklet en Dattercelle. 1'. Kl. $2^1/_4$: Den øverste Dattercelle har fra sin kuppelformede Isse udskudt en Knop, hvis første synlige Anlæg traadte frem Kl. $1^1/_2$. Den nederste Dattercelle er bleven større. 1''. Kl. $2^1/_2$: Denne er nu frigjort fra den gamle Modercelle; den sidstdannede Knop er bleven betydeligt større. 1'''. Kl. $3^3/_4$: Den gamle Modercelle er atter vendt tilbage til samme Stadium, som da Iagttagelsen begyndte; Dattercellen fra Spiretraaden er den samme, og dens Knop er bleven fuldt udviklet og fri; men fra den gamle Modercelles kuppelformede Ende er der udposet en ny Dattercelle. — De samme Udviklingsstadier gjentage sig nu: 1', 1'' og derpaa atter 1''', og de samme Væxtpunkter benyttes; der fremkommer saaledes stedse tilbagevendende Cycler, kun i Henseende til

Tiden, der medgaar hertil, gjør der sig Uregelmæssigheder gjældende. 2. Kl. $1^1/_4$: En oval Celle med tilspidset, kort Spiretraad har fra sin Isse udviklet en lille Knop. 2′. Kl. $2^1/_4$: Denne har tiltaget i Størrelse. 2″. Kl. 3: Den er i Færd med at frigjøres. 2‴. Kl. $3^1/_2$: Gjentagelse af Stadiet 2. — Fra samme Punkt paa Issen vedblev den gamle Modercelle i Løbet af et Døgn at afsnøre den ene Knop efter den anden med samme Udviklingsgang og samme Form. Der hengik $1^1/_2$—3 Timer fra det Øjeblik, Knoppen viste sig, og til det, da den som færdig Celle af en ny udposet Knop blev skudt lidt tilside og løsnet fra Modercellen; i 12 Timer havde denne saaledes dannet 5 nye Celler. 3. Kl. $2^1/_2$: En Celle med kort, tyk Spiretraad, som er kløvet og løber ud i to Spidser. 3′. Kl. 3: Fra den ene af disse udvikles en Knop. 3″. Kl. $3^1/_2$: Fortsat Udvikling af samme. 3‴. Kl. $4^3/_4$: Den nydannede Celle er frigjort, og Modercellen igjen vendt tilbage til Stadiet 3. — Derpaa gjennemløbes paany Stadierne 3′, 3″, 3‴ o. s. v.

4—7. $\frac{620}{1}$. Celler, som ikke blot have udviklet Spiretraade, men tillige ere i Færd med at formere sig ved Knopskydning. Saadanne Former opnaas navnlig, naar man, efterat have dyrket Cellerne paa Gibsblokke efter Engel's Methode saalænge, indtil Spiretraadene ere traadte frem, derpaa overfører dem i en gjæringsdygtig Vædske (Ølurt, Vindruesaft). I Fig. 7 er al Modercellens Protoplasma gjennem Spiretraaden vandret ud i den nydannede Knop.

8—29. $\frac{620}{1}$. Celler af indbyrdes meget afvigende Udseende og med forskjelligt udviklede Spiretraade. I Fig. 8 ses en Celle, hvis Protoplasma er vandret ud i Spiretraadens yderste Del, der er but afrundet. Fig. 11 forestiller en Celle fra en gammel Gibskultur; Spiretraaden er her kløvet i Spidsen og udstyret med en Tværskillevæg. Fig. 13 frembyder et Exempel paa det Forhold, at en Spiretraad lidt indenfor sin yderste Spids afsnører en Knop. I Fig. 14 er Spiretraaden knopformigt opsvulmet paa Midten. Fig. 17—18 udmærke sig ved deres barokke Spiretraade; sidstnævnte har to, hvoraf den ene er meget tilspidset. I Fig. 20 er afbildet en Celle med to Spiretraade, hvoraf den ene er kløvet; Væggene kunne ikke iagttages med det anvendte Objectiv (Zeiss F.), og det Hele fik derfor et amøbeagtigt Udseende. Lange og grenede Spiretraade optræde fortrinsvis i gamle Gibskulturer; F. 26 viser dette. I Fig. 29 haves en Celle, som ikke blot har udsendt en Knop, men desuden tre Spiretraade, hvoraf den ene er grenet.

30—31. $\frac{620}{1}$. Celler i Knopskydning.

32. $\frac{1180}{1}$. En Celle med en Spiretraad, som fra sin meget tykke Grunddel udsender Grene; maaske fremmed Indblanding.

33. $\frac{1180}{1}$. En oval Celle, hvis Spiretraad er udstyret med en stor Knop, som udskyder en kort, tilspidset Spiretraad. Saavel Modercellen som Knoppen ere udstyrede med Vakuoler, og i denne findes tillige et stærkt lysbrydende, lille Korn.

34. $\frac{1180}{1}$. En oval Celle, som ikke blot har udviklet en tilspidset, temmelig lang Spiretraad, men tillige en Knop; det Hele er udfyldt med grynet Protoplasma.

35—35‴. $\frac{620}{1}$. En Celle i Knopskydning; een Udviklingsrække. Kultur i Ranvier's Kammer med filtreret Humleurt som Næringsvædske. 35. Kl. 10½; 35′. Kl. 11; 35″. Kl. 11½; 35‴. Kl. 12½.

36. $\frac{620}{1}$. Større og mindre Celler, hvoraf nogle i Knopskydning.

37. $\frac{1180}{1}$. En Gruppe af Celler, hvoraf den ene har gjort Tilløb til at udpose en Knop; i flere ses stærkt lysbrydende Korn.

EN RØDFARVET GJÆRSVAMP FRA LUFTEN UNDER KIRSEBÆRTRÆERNE. Fig. 38—41, p. 253—264.

38—38′. $\frac{620}{1}$. En Celle i Knopskydning i filtreret Humleurt i Ranvier's Kammer; 38. Kl. 2½; 38′. Kl. 5.

39—39′. $\frac{620}{1}$. En Celle i Knopskydning; lignende Kultur som foregaaende; 39. Kl. 8½; 39′. Kl. 9.

40. $\frac{620}{1}$. En Cellekoloni.

41. $\frac{620}{1}$. Celler fra Kultur paa en Gibsblok. Paa Grund af den mangelfulde Ernæring har der i deres Indre dannet sig kuglerunde, stærkt lysbrydende Legemer, der opløses i absolut Æther og maa opfattes som Fedtmasser. De kunne undertiden let forvexles med Askosporerne, og saadant er vistnok ogsaa for andre Arters Vedkommende sket.

SACCHAROMYCES GLUTINIS (Fres.) Cohn. Fig. 42—44, p. 253—264.

42—42‴. $\frac{620}{1}$. En Celle i Knopskydning i filtreret Humleurt i Ranvier's Kammer; 42. Kl. 10; 42′. Kl. 11½; 42″. Kl. 1¼; 42‴. Kl. 1¾.

43—43″. $\frac{620}{1}$. En lignende Kultur. 43. Kl. 11½: En Modercelle med to Døttreceller. 43′ Kl. 1¼: Dattercellen tilvenstre er

frigjort og har selv udskudt en Knop; den anden Dattercelle er bleven lidt større. 43''. Kl. 2: Sidstnævnte er nu ogsaa løsnet fra Modercellen, der allerede er i Færd med at udvikle en ny Knop.

44. $\frac{620}{1}$. En Celle i Knopskydning fra Kultur paa en Gibsblok. Modercellen er udstyret med en stor Vakuole, og i det denne omgivende Protoplasma findes et stærkt lysbrydende Korn (Cohn's Cellekjerne?); i Knoppen ses to af samme Beskaffenhed.

MICROCOCCUS. Fig. 45, p. 233.

45. $\frac{1180}{1}$.

SARCINA. Fig. 46, p. 234.

46. $\frac{1180}{1}$. I nogle Tilfælde bestaa Grupperne kun af 3 eller 2 kugleformede Legemer; a fremstiller en Gruppe, bestaaende af 6 og b en Gruppe, dannet af det normale Antal, men hvor de to Led paa Grund af Dækglassets Tryk bleve noget fjernede fra hinanden.

MICROCOCCUS (Torulaform). Fig. 47, p. 233.

47. $\frac{1180}{1}$.

BACTERIUM PYRIFORME. Fig. 48—49, p. 231.

48. $\frac{1180}{1}$.

49. $\frac{1180}{1}$. En Kjede, vistnok tilhørende denne Art.

SMAA STAVBACTERIER. Fig. 50—52'', p. 232—233.

50. $\frac{1180}{1}$. De minde i nogle Retninger om meget smaa Exemplarer af Mycodermaformerne, men danne ikke som disse Kjeder; i anden Henseende stemme de overens med de nærmest Efterfølgende, og der findes i Virkeligheden alle mulige Overgangsformer.

51. $\frac{1180}{1}$.

52—52''. $\frac{1180}{1}$. Een Udviklingsrække. De her afbildede Exemplarer bleve kultiverede i Ranvier's Kammer med Lufttilledningsrør og med filtreret Humleurt som Næringsvædske; først tiltoge de noget i Størrelse, Fig. 52; 1½ Time senere havde to af dem skilt sig fra hinanden, medens de andre to endnu kun havde ligesom gjort et Tilløb dertil og udført en svag Bøjning, Fig. 52'; ¼ Time derefter var hver af de to frie Celler ikke blot bleven større, men havde delt sig i to, Fig. 52''. Disse De-

linger gjentoge sig, saa at der efter nogle Timers Forløb fremkom en uordentlig Hob af temmelig talrige Bakterier. Denne Form kan ifølge mine Iagttagelser affarve Urten og Carlsberg Lagerøllet, saa at disse Vædsker miste deres brune Farve og blive gulladne og uklare.

BACTERIUM FUSIFORME Warm. Fig. 53, p. 232.

53. $\frac{1180}{1}$.

BACTERIUM KOCHII. Fig. 54, p. 231.

54. $\frac{1180}{1}$. a forestiller et Exemplar, hvor Cellen er i Færd med at dele sig; Væggen ses her tydeligt ligesom hos de øvrige, og jeg antager, at de alle høre til een Art.

BACTERIUM CARLSBERGENSE nov. sp. Fig. 55, p. 231.

55. $\frac{1180}{1}$.

SPIRILLUM TENUE Ehrb., Fig. 56—57, p. 228.

56. $\frac{1180}{1}$. Denne Afbildning fremstiller kun Brudstykker af den nævnte Art; flere ere hesteskoformede, og i Fig. a og b ses Exempler paa Tværdeling.

57. $\frac{1180}{1}$. Smukke spiralsnoede Exemplarer.

BACILLUS SUBTILIS (Ehrb.) Cohn, Fig. 58—59, p. 229.

58. $\frac{1180}{1}$. I Fig. a ses Led med Sporer og i Fig. b en spirende Spore.

59. $\frac{620}{1}$. En lang, i Løkker snoet Traad.

MYCODERMA ACETI (Kütz) Pasteur OG MYC. PASTEURIANUM nov. sp. Fig. 60—70, p. 230 og p. 275—281.

60. $\frac{1180}{1}$. Kortere og længere Kjeder af Mycoderma Pasteurianum; det ses, at Leddene i samme Kjede kunne være indbyrdes meget forskjellige baade i Henseende til Størrelse og Lysbrydning; de med mørke Omrids tegnede vare de mest glindsende; a viser et Exempel paa, at en Kjede af stærkt lysbrydende Led ender med en svagt krummet og lidt opsvulmet Traad; i b ses en Kjede, bestaaende af fire Led, hvoraf det større i Midten netop har begyndt at indsnevre sig til Tverdeling; de øvrige tre vare nylig fremkomne og havde derfor endnu ikke strakt sig. Afbildningerne ere tegnede efter et Præparat, der blev farvet blaat af Jod.

61. $\frac{1180}{1}$. To af Jod blaatfarvede Kjeder af den sidstnævnte Art.

62. $\frac{1180}{1}$. Særskilte Led af samme Art.

63. $\frac{1180}{1}$. Forholdsvis store Celler, hvis Væg ses ret tydeligt; de optræde sammen med typiske Exemplarer af Mycoderma Pasteurianum og blive ligesom disse blaatfarvede, naar de paavirkes af Jod. I den ene af Cellerne ses i hver af begge Enderne et stærkt lysbrydende, lille rundt Legeme.

64. Traadformede og tendannede Udviklingstrin af de to Mycodermaarter. Der ses her Exempler paa de ofte barokke Former, hvormed de kunne optræde. I a har en Traad i en kort Strækning delt sig i normalt timeglasformede Led og udsender derpaa et forholdsvis meget langt Led; b forestiller to tendannede Legemer, c et Parti af en Traad, der netop er i Færd med at dele sig; det Samme er Tilfældet med d, men det Hele har her et aldeles uregelmæssigt Udseende; e fremstiller et Parti af en Kjede, der ender med et meget stort, kølleformet Led; f er rimeligvis et lignende, men frigjort Led. I g er der afbildet en Traad, som i en større Strækning er stærkt opsvulmet og indeholder grynet Protoplasma; ved en vis Indstilling af Mikroskopet ser det næsten ud, som om vi efter Nägeli's Mening havde en Torulakjede, men ved nøjere Eftersyn viser det sig at være en fejlagtig Opfattelse. Traaden i h er opsvulmet i begge Ender, men paa Midten delt i Led. I i ses to Traade, der i en større Strækning hver have delt sig i Led af meget forskjellig Størrelse og Form. Afbildningen j forestiller en Kjede med uregelmæssige, undertiden pæreformede Led; den er opstaaet ved Tværdeling af en Traad. I k og l ses to Brudstykker af en og samme Kjede; de lange Led deri vise hen til, at Grundlaget her ligeledes har været en af de ofte omtalte Traade. P. 275—278 har jeg anført de Grunde, som have bevæget mig til at betragte alle de i Fig. 64 afbildede Former som hørende genetisk sammen med de typiske Mycodermakjeder. Figurerne e, f, i, k, l og nogle af de ikke mærkede ere meget stærkt forstørrede, de øvrige som sædvanlig $\frac{1180}{1}$.

65. Meget stærk Forst. En Kjede, hvis nederste Led netop ere fremkomne ved Tværdeling og derfor endnu have en næsten kuglerund Form; de øverste have begyndt at indsnøre sig paa Midten, hvorved de blive timeglasformede.

66. $\frac{1180}{1}$. En kort Kjede, i hvilken hvert af de to mellemste Led indeholder et stærkt lysbrydende Legeme (Spore?).

67—67″. $\frac{1180}{1}$. En firleddet Kjede af Myc. Pasteurianum i Tværdeling. Til Kulturen blev der benyttet et fugtigt Kammer med Lufttilledningsrør og Carlsberg Lagerøl som Næringsvædske; førend denne sattes til, bleve Cellerne anbragte paa et Dækglas og et Øjeblik overladte til Indtørring, hvorved de bleve fixerede og Iagttagelsen altsaa lettere. 67. Kl. 4: De fire Celler ligge i en ret Linie og have kun begyndt at indsnøre sig lidt paa Midten. 67′. Kl. 8½: Indsnøringen er ikke skreden videre frem, men Cellerne have strakt sig og forandret deres Stilling til hverandre. 67″. Kl. 11: Hver af de tre Celler har delt sig; den fjerde er derimod forbleven uforandret.

68—68‴. $\frac{1180}{1}$. En lignende Udviklingsrække som den nærmest foregaaende og behandlet paa samme Maade. 68. Kl. 1½: De tre Led ligge i en ret Linie; det ene har stærkere Lysbrydning end de to andre. 68′. Kl. 6½: Det sidst nævnte Led har ikke forandret sig, men hvert af de to andre har delt sig i to, som danne en ret Vinkel med hinanden. 68″. Kl. 8½: Det stærkt lysbrydende Led er uforandret; de tre nærmest dette værende have strakt sig lidt, og det fjerde Led har delt sig. 68‴. Kl. 10: Det stærkt lysbrydende Led er endnu uforandret; de tre derefter følgende have hver delt sig i to; der findes nu ialt ni Led, og den korte Kjede, hvormed vi begyndte, har forvandlet sig til en Gruppe.

69—69″. $\frac{1180}{1}$. En lignende Udviklingsrække som de to foregaaende, og i en lignende Kultur. 69. Kl. 4 Efterm.; 69′. Kl. 9½ Aften; 69″. Kl. 9 næste Form.

70. Meget stærk Forst. En abnorm Kjede, dannet af indbyrdes meget forskjellige Led; stærkt lysbrydende, næsten kuglerunde, ovale, cylindriske, matte, graa og et timeglasformet, der viser en ret tydelig Væg.

71. $\frac{1180}{1}$. De p. 234 omtalte Former: a fra Porter, b fra Hvidtøl.

Carlsberg Laboratorium.

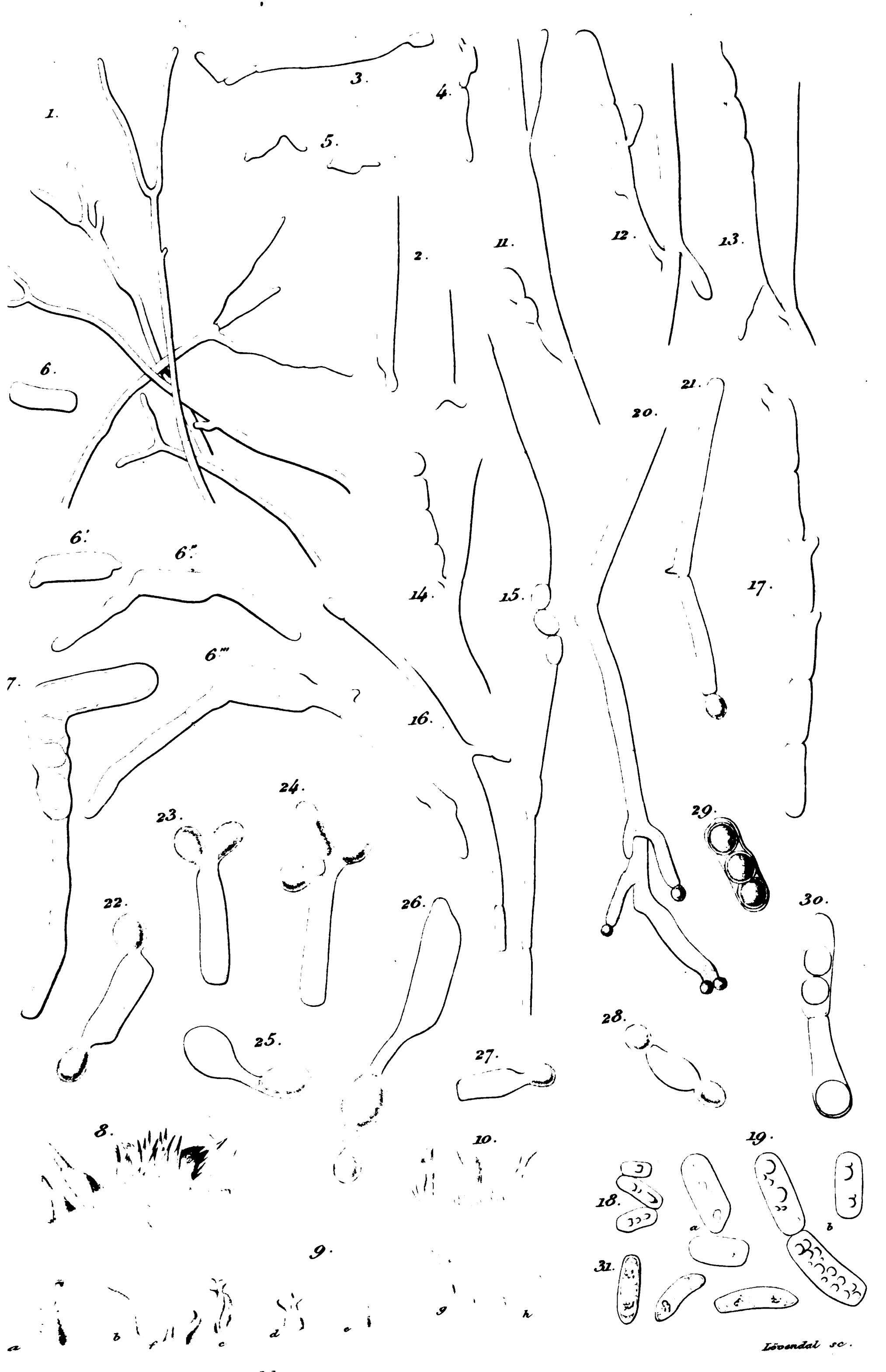
November 1879.

Som anført i den tidligere Meddelelse om Laboratoriets Indretning m. m. (Side III—VI), var der foruden de Lokaler, som vare færdige i Foraaret 1878, projekteret to Arbejdsværelser for Assistenter. Den nærmere Ordning af disse Rum, som i Grundplanen ere betegnede med LL, er i Løbet af samme Aar tilendebragt, men med den forandrede Bestemmelse, at de begge ere tillagte den kemiske Afdeling, det forreste, som støder op til Laboratoriet F, nemlig som Assistentværelse, og det bageste, som nu har faaet Udgang til Entreen K, som Instrumentværelse og Arbejdsværelse for Forstanderen i Stedet for det af ham før benyttede Værelse E. Denne Ombytning blev foretaget, for at den fysiologiske Assistent, naar en saadan blev ansat, kunde faa Værelset D, som støder op til den fysiologiske Afdeling, til Arbejdsværelse. Samlinger, Præparater o. a. desl., som før havde Plads i dette Rum, ere derfor nu tilligemed en Del af Bogsamlingen anbragte i Værelset E.

I sidst nævnte Lokale, E, vil med det Første blive opstillet en Marmorbuste af Louis Pasteur, udført af Paul Dubois efter Bestilling af Hr. Kaptajn Jacobsen og af ham skjænket til Laboratoriet. Indtil videre indtages dens Plads af en Gibsafstøbning.

Til Instrumenter og Apparater er i de to sidste Regnskabsaar, 1. Oktober 1877—30. September 1879, tilsammen anvendt omtrent 4100 Kroner, og ligesaa til Bøger omtrent 440 Kroner. Desuden er Instrumentsamlingen i Aaret 1878 bleven forøget ved Gaver fra Hr. Kaptajn Jacobsen, hvoriblandt maa fremhæves et nyt Mikroskop af Powell & Lealand til Værdi af henved 3100 Kroner, som med en overordentlig Forstørrelse, f. Ex. 5000 Gange lineær, dog giver klare Billeder.

Forstanderposten i den kemiske Afdeling beklædes som hidtil af Hr. Johan Kjeldahl. Som Forstander for den fysiologiske Afdeling er Hr. Dr. phil. Emil Chr. Hansen, der fra Begyndelsen af 1878 med Bestyrelsens Samtykke havde arbejdet privat i Laboratoriet og fra 1. Januar 1879 havde været konstitueret som Forstander, fast ansat fra 1. Oktober 1879. — Som Assistent ved den kemiske Afdeling har Hr. polyteknisk Kandidat A. Therkelsen været ansat fra 1. September 1878 til Udgangen af Juni 1879, da han efter eget Ønske fratraadte Posten. Efter at have staaet ledig i nogle Maaneder, er samme Post fra 1. November 1879 atter besat med Hr. polyteknisk Kandidat A. Weis, og som Assistent ved den fysiologiske Afdeling er Hr. farmaceutisk Kandidat V. Rossing ansat fra 15. Oktober 1879. De ere begge ansatte med Forpligtelse til at tage Del i Arbejderne i Bryggeriet, for derved at blive fortrolige med samtlige Bryggeri-Operationer og faa den praktiske Erfaring, hvortil de videnskabelige Undersøgelser i Laboratoriet skulle slutte sig.



Emil Chr. Hansen ad. nat. del.

Lövendal sc.



Emil Chr. Hansen ad. nat. del.

Lövendal sc.

Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

I.

Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur.

Iblandt Gjærsvampene er det som bekjendt navnlig Arter af Slægten Saccharomyces, der udmærke sig ved Fermentvirksomhed. En af disse, nemlig den i Gjæringsstekniken berømte Saccharomyces cerevisiæ, har i mange Aar været tagen i Kultur, og det Samme kan maaske siges om den i Surdejgen værende lille Gjærsvamp, Saccharomyces minor. Foruden disse gives der imidlertid ogsaa vilde Gjærformer, der i Sommertiden optræde paa saftige Frugter og undertiden føres om med Luftens Støv.

Det er fornemlig gjennem Pasteur's Undersøgelser, at den nyere Tids Fysiologer og Kemikere ere førte ind paa Studiet af de vilde Gjærformer, af deres Udvikling, Livsvirksomhed, kemiske Omsætninger og Udbredning i den frie Natur.

I sidstnævnte Retning har Pasteur rejst et interessant Spørgsmaal, som jeg i det første Afsnit af denne Afhandling skal tillade mig at fremdrage og behandle.

I sin Bog om Øllet og dets Sygdomme gjør han gjentagne Gange opmærksom paa det Fænomen, at Gjærsvampene (Saccharomyces-Arterne) kun findes paa de modne Druer, men aldeles mangle paa de umodne[1]). »Hvor og hvorledes opstaa Druernes Gjærsvampe?« spørger han. Og han svarer selv: »I Støvet paa Frugterne, Stilkene og Grenene; og herfra udbredes de med Vinden«. Dette

---

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 150, 155, 176—178.

Støv har han med megen Flid og Interesse undersøgt og giver Afbildninger og Beskrivelser deraf. Fra brune dematiumlignende Celler, som her ere almindelige, antager han, at Gjærcellerne have deres Oprindelse. Beviser, som de nu kræves, giver han ikke. Men spørge vi, hvad Aarsagen da vel er til dette mærkelige Forhold; hvorfor findes Gjærsvampene ikke paa de umodne Druer, og hvor tilbringe de Vintertiden? saa giver Pasteur os intet direkte Svar herpaa; han synes at antage, at de i den lange Mellemtid i dematiumagtige Former leve paa Plantedele og først, naar Druerne ere modne, vise sig i Gjærsvampeskikkelsen paa disse. Atter og atter kommer han tilbage til Spørgsmaalet, og det ses tydeligt med hvilken Interesse, han omfatter det, saaledes ogsaa i hans nyeste Bog[1]).

En anden betydelig Forsker, Brefeld, har omtrent paa samme Tid som Pasteur fremdraget dette Problem[2]). »Gjærsvampene«, siger han, »ere meget udbredte i Naturen; deres Kim findes i den atmosfæriske Luft, i Støvet, paa forskjellige Plantedele, paa Blade, Frugter etc. Man har hidtil ladet sig nøje med denne Viden om Gjærsvampenes Optræden og, som det synes, identificeret Kimenes Forekomst med det egentlige Opholdssted, hvor de leve og voxe. Hvad vide vi om dette? Hvem kan angive, hvorfra Kimene stamme, angive, hvor Gjærsvampenes egentlige Opfostringssted i Naturen er, hvorfra det er muligt, at der kan finde en saa uhyre Udbredning Sted? Dette Spørgsmaal har man endnu slet ikke stillet sig, og deraf kommer det, at vi fremdeles ere aldeles uvidende om deres normale Opholdssted i Naturen, om Stedet, hvor og om Maaden, hvorpaa de overvintre«. — Han kommer til den Anskuelse, at i det dyriske Legeme, i Exkrementer, fornemlig af planteædende Dyr, i Gjødning er Opfostringsstedet og det egentlige Opholdssted, hvor Gjærsvampene tillige have opnaaet deres Gjæringsevne. Brefeld synes imidlertid ikke at være kommen til dette Resultat saa meget gjennem Experimenter og Undersøgelser, som gjennem sine Forsøg paa i darwinistisk Aand at finde en Forklaring af, hvorledes Gjæringsevnen under ydre Livsforholds Indflydelse har udviklet sig hos disse Skabninger.

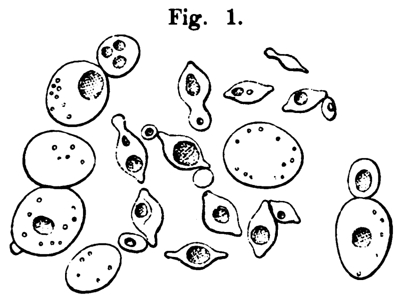
---

[1]) Pasteur, Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation, 1879, p. 66—75.

[2]) Brefeld, Ueber Gährung II—III (Landwirthschaftl. Jahrb. IV—V. B. 1875—76, p. 408 og 332).

Da jeg besluttede at tage fat paa denne Opgave, saa jeg snart, at jeg, for at bringe Undersøgelsen udover det Almindelige, Svævende og Usikre, maatte slaa ind paa en anden Vej end mine Forgængere og vælge en saadan Gjærform, som tillod at stille Spørgsmaalet bestemt, og med hvilken det var muligt at experimentere. Med andre Ord: Der maatte vælges en til alle Tider let gjenkjendelig Gjærform, saa at man bestandigt kunde være paa det Rene med, om den var tilstede eller ej. Hertil egner den lille Saccharomyces apiculatus med sin udprægede Figur og sine mærkværdige fysiologiske Ejendommeligheder sig i høj Grad. Cellerne af de øvrige Saccharomyces-Arter ere saa lidt karakteristiske, at de med Lethed forvexles med visse Udviklingstrin af Dematium, Fumago, Exoascus og andre.

Fig. 1.



Celler af Sacch. cerevisiæ og Sacch. apiculatus. (Forstørret c. 950 Gange, lineær.)

Sacch. apiculatus er, som Figur 1 viser, i sin typiske Skikkelse en lille citronformet Celle, tilspidset i hver Ende, 4,5—9, hyppig c. 7 Mikromillim. lang, ofte med en stor Vakuole. Til Sammenligning er der i Fig. 1 tegnet nogle Celler af Ølgjærsvampen, Sacch. cerevisiæ. Disse ere let kjendelige fra de andre ved deres betydeligere Størrelse og ovale, ægformede eller næsten kuglerunde Skikkelse.

Ifølge Reess's Undersøgelser[1]) optræder Sacch. apiculatus hyppig massevis i Vingjæren. I mange Tilfælde, omend ikke i alle, beretter han, indledes Vinens Hovedgjæring af den, hvorpaa den maa vige Pladsen for Sacch. ellipsoideus og i Eftergjæringen aldeles tilbagetrænges. Ogsaa Pasteur fandt den almindelig i Vindruemost[2]). I de belgiske Ølbryggerier, hvor Selvgjæring anvendes, optræder

[1]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 26, 28 og p. 37.

[2]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148.

den ligeledes, og paa modne, søde, saftige Frugter i vore Haver er den meget almindelig. Naar Mosten heraf gaar i Alkoholgjæring, skyldes dette efter Engel's Meddelelser i de fleste Tilfælde den. Han fandt ligeledes en Mængde af den sammen med Sacch. cerevisiæ i Øl fra Obernay[1]), og jeg iagttog nogle Gange døde Celler af den i Bærmen fra Lagerfadene paa Carlsberg.

I mine Undersøgelser fra 1878 over Luftens Mikroorganismer[2]) var jeg bleven opmærksom paa nogle almindelige Træk i den Maade, hvorpaa Sacch. apiculatus optraadte i Luftens Støv. Herved kom jeg til den Formodning, at den lille Gjærsvamp vistnok først viste sig paa de tidligst modne, søde, saftige Frugter og derefter paa de senere modne. I Haven ved vort Laboratorium maatte Stikkelsbærrene saaledes faa et af dens første Besøg og Vindruerne et af dens sidste, hvilket ogsaa var Tilfældet.

Nær laa det ligeledes at antage, at de søde, saftige Frugter ere dens egentlige Opfostringssted.

Regnen maatte jo ogsaa ude i den frie Natur kunne udføre den samme Afvaskning af Frugterne, som jeg udførte inde i Laboratoriet, naar jeg ligesom Pasteur ønskede at studere Støvet med dets organiske Verden. Paa denne Maade vilde den blive ført ned i Jorden; her kom jo ogsaa de nedfaldne Frugter. Mon Overvintringsstedet skulde være her? Jeg havde saaledes, da jeg udgav det nævnte Skrift, en hel Række Hypotheser, men ingen Sikkerhed; derfor undlod jeg at udtale mig. Nu efter omtrent to Aars Experimenteren har jeg faaet Løsningen.

Den anvendte Undersøgelsesmethode bestod i nogle Tilfælde ligefrem i en mikroskopisk Analyse, i andre blev der derimod først foretaget Dyrkningsforsøg, hvortil jeg benyttede de i et tidligere Arbejde beskrevne Kogeflasker med klar, filtreret Humleurt som Næringsvædske[3]). Heri anbragtes de Frugter, Jordprøver o. s. v., hvis Organismer jeg ønskede at dyrke for at erfare, om Sacch. apiculatus var deriblandt eller ej. Disse Forsøg bleve anstillede med tilbørlig Forsigtighed; de benyttede smaa Spader, Saxe og Knive bleve saaledes i Forvejen trukne igjennem en Flamme for at bortbrænde det muligt tilstedeværende Støv derpaa; og efter at

---

[1]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872, p. 30 og 53.

[2]) Emil Chr. Hansen, Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1879, p. 185, Organismer i Øl og Ølurt, 1879, p. 102.)

[3]) l. c. p. 188 og 208.

Flaskerne vare aabnede og vedkommende Prøve anbragt deri, bleve de hurtigt paany tilbundne med Filtrerpapiret. I de Tilfælde, hvor jeg uden foregaaende Kultur undersøgte Støvet paa Frugterne, bleve disse som oftest rensede ved Hjælp af en Sprøjteflaske med destilleret Vand, og af Skyllevandet lavede jeg nu paa sædvanlig Maade de mikroskopiske Præparater. Undertiden blev ogsaa den ønskede Prøve fra vedkommende Frugts Overflade afskrabet med en lille Kniv og straks anbragt paa Objektglasset. Til at studere Støvet, som laa paa Træernes Bark, paa Bygninger o. s. v. benyttede jeg følgende Fremgangsmaade. I et Glas med en stor Glasprop anbragtes noget Bomuld, som derpaa blev overgydt med meget stærk Alkohol. Efterat Bomulden i længere Tid havde været paavirket heraf, blev Vædsken hurtigt hældt fra og Glasset overbundet med Filtrerpapir, der i Forvejen havde været trukket igjennem en Flamme; derefter blev Glasset hensat i en Tørrekasse ved en høj Temperatur, forat Resten af Vinaanden kunde fordampe. Den saaledes præparerede Bomuld viste sig ved Prøven at være aldeles fri for levende Bakterier, Gjærsvampe, Skimmelsvampe og lignende Organismer overhovedet. Med smaa Totter heraf bleve de ønskede Støvprøver opfejede og hurtigt anbragte i Kogeflaskerne med deres Næringsvædske. Desuden blev der foretaget Analyser af det i Luften svævende Støv, dels med de omtalte Kogeflasker, dels med Vakuumskolber. Efter saaledes at have givet en Fremstilling af Undersøgelsesmethoden gaar jeg over til at meddele et kort Omrids af selve Analyserne og de derigjennem indvundne Resultater.

I Begyndelsen af Juli 1879 anbragtes nogle umodne Frugter fra Kirsebærtræerne og Stikkelsbærbuskene i Haven i et større Antal af Flaskerne. Samtidig hermed bleve et lignende Antal Flasker inficerede med Jordprøver, tagne under de nævnte Træer og Buske. Efter en kort Tids Forløb optraadte der i alle Kulturerne en yppig Vegetation af forskjellige Organismer, men kun i de sidstnævnte fandtes Sacch. apiculatus. Ved at gjentage Forsøget fik jeg samme Resultat. Heraf fremgik altsaa, at vor lille Gjærsvamp paa den Tid vel fandtes i Jorden, men ikke paa de endnu umodne Frugter. I Overensstemmelse hermed viste ogsaa de fra Juni og Begyndelsen af Juli Maaned udførte Undersøgelser over Mikroorganismernes Optræden i Luften, at den her endnu ikke var tilstede. Først i Slutningen af Juli iagttog jeg den i Luften. Af dette maatte jeg drage den Slutning, at Sacch. apiculatus endnu kun fandtes i Jorden og ikke ovenover denne. Heri laa allerede Gaadens halve Løsning og et tydeligt Vink om, hvilken Vej jeg fremdeles skulde gaa.

I Begyndelsen af August fandt jeg den bestandig paa de modne Kirsebær og Stikkelsbær, derimod ikke paa de umodne Blommer. Da disse Frugter i September bleve modne, fostrede de ogsaa rige Vegetationer; i Slutningen af Oktober bleve de afplukkede. Vindruerne modnedes ikke dette Aar, og uagtet jeg fra Begyndelsen af August til November tog talrige Prøver deraf til Dyrkningsforsøg i mine Kogeflasker, viste der sig dog intet Spor af den. Paa de modne Druer, som til forskjellig Tid bleve kjøbte hos Frugthandlere, var den derimod bestandig tilstede. Hovedresultatet blev, at Sacch. apiculatus fandtes almindelig paa de modne Kirsebær, Stikkelsbær, Blommer og Druer og kun rent undtagelsesvis paa disse Frugter i umoden Tilstand.

Ved paa den beskrevne Maade at undersøge Støvet paa de ovennævnte modne Frugter fandt jeg i dette regelmæssig talrige Celler af den og ofte i Knopskydning, et Tegn paa, at den her formerer sig. Dette var især Tilfældet, naar Frugterne havde Revner. I disse, hvor Saften vældede frem, fandtes nemlig regelmæssig en meget større Mængde end paa den ubeskadigede Overhud, og Vegetationerne her havde ogsaa det kraftigste Udseende. Det er herved afgjort, at den findes paa saadanne Frugter, og at disse ere Opfostringssteder for den, hvilket ogsaa omtales af Reess[1]) og Engel[2]). Den iagttoges ligeledes, om end ikke saa almindelig, paa Ribs, Hindbær, Rønnebær og paa Frugterne af Berberis.

Til et Bevis for, at de nævnte Frugter ere dens egentlige Opholds- og Opfostringssteder, hører imidlertid ikke blot, at den i Almindelighed findes der, og at den formerer sig der, men tillige dette, at den enten slet ikke eller kun undtagelsesvis optræder saaledes paa andre Steder. Herved ere vi komne ind paa Bevisførelsens andet Led. Dette frembyder ifølge sin Natur større Vanskelighed end det første. Undersøgelserne i den Retning maa naturligt først gaa ud paa at afgjøre, om den findes paa Frugterne, Bladene og Grenene af de andre Træer og Buske i Haven og i Skoven. I den Hensigt bleve navnlig Lind, Ahorn, Bøg, Eg og Hvidtjørn prøvede; i de allerfleste Tilfælde dog med negativt Resultat. Den sjældne, uregelmæssige Optræden her viste tydeligt hen til, at Sacch. apiculatus slet ikke havde hjemme paa disse Steder. Af Hensyn til Brefeld's Udtalelser bleve ogsaa Exkrementer af Menneske, Ko og Hest undersøgte. Der iagttoges

[1]) l. c. p. 38.
[2]) l. c. p. 36 o. flg.

imidlertid her intet Spor af den, og under alle Omstændigheder kan den følgelig i disse Substrater ikke være almindelig. I min Afhandling om Gjødningssvampene findes den ejheller i Fortegnelsen over de af mig undersøgte Arter, hvilket derimod er Tilfældet med Former, der nærmest maatte bestemmes som Sacch. cerevisiæ[1]).

Hvis de foregaaende Iagttagelser og den dertil knyttede Tankegang var rigtig, maatte man i Almindelighed vente at træffe den ikke blot paa Frugterne af de nævnte Træer og Buske, men tillige i Jorden derunder og enten slet ikke eller kun sparsomt og sjældent i Jorden andre Steder. Dette er Bevisførelsens tredie Led. Methoden frembyder sig af sig selv: Der foretages til forskjellige Tider talrige Undersøgelser af Jorden paa de Steder, hvor Forudsætningen kræver, at den skal være, ligeledes under andre i Nærheden staaende Træer og Buske, og endelig fjærnt fra Frugthaver, paa Marken og i Skoven. Saaledes prøves Tankens Rigtighed fra en ny Side.

Prøverne af Jorden under Blomme- og Kirsebærtræerne samt under Stikkelsbærbuskene gave uden Undtagelse rige Vegetationer af Sacch. apiculatus i de omtalte Kogeflasker. Meget sjældent fandt dette derimod Sted med de paa lignende Maade tagne Prøver fra Jorden under Vinrankerne og under de i Nærheden af de ovennævnte Træer og Buske værende Linde-, Ahorn-, Hestekastanie- og Naaletræer, og det Samme gjaldt om Jordprøverne fra Ege, Bøge og Hvidtjørn i en nærliggende Lystskov, Søndermarken. I Skov- og Markjord, som laa i en større Afstand fra Frugthaver og Spadsereveje, fandt jeg den, trods flittig og gjentagen Søgen, aldrig.

Af de meddelte Undersøgelser fremgaar altsaa, at de søde, saftige Frugter ikke blot ere et Opholdssted for Sacch. apiculatus, men at de tillige maa betragtes som dens egentlige Hjemsted om Sommeren. At det ogsaa er et Opfostringssted, erfarede vi som ovenfor meddelt, da vi fandt den i Knopskydning udenpaa Frugterne. Et indirekte Bevis haves endelig deri, at Mængden af Celler tager til og udbredes mere, efterhaanden som Havens søde, saftige Frugter modnes og blive talrigere. De her paa Laboratoriet siden 1. Maj 1878 anstillede Undersøgelser over Luftens Mikroorganismer pege i samme Retning.

Det er let at iagttage, hvorledes Sacch. apiculatus fra de Frugter, hvorpaa den findes, føres ned i Jorden. Dette sker paa

---

1) Emil Chr. Hansen, De danske Gjødningssvampe (Videnskabl. Meddelelser fra den naturhist. Forening i Kjøbenhavn 1876, p. 341).



en dobbelt Maade: ved Hjælp af Regnen og ved de nedfaldne Frugter. Men er dette Overvintringsstedet, tilbringer den her den lange Mellemtid fra Efteraaret, indtil den næste Sommer har frembragt nye Opfostringssteder for den? Dette Spørgsmaal besvares ad to Veje. I det ene Tilfælde tages der i Løbet af Vinteren og Foraaret talrige Prøver fra de Steder, hvor vi i Følge det Foregaaende vide, at den om Sommeren findes, og hermed anstilles der Dyrkningsforsøg i Kogeflaskerne og i fugtige Kamre, for at vi kunne erfare, om den er tilstede eller ej, og om den, for saa vidt den findes, er levende. I det andet Tilfælde anbringe vi selv om Efteraaret den lille Gjærsvamp i Jorden paa et bestemt Sted i Haven for at erholde Oplysning, om den her kan overvintre og holde sig levende til næste Sommer.

I Efteraaret 1879 fik jeg ved Gartnerens Velvillighed nogle Pletter Jord indhegnede under Stikkelsbærbuskene, Blommetræerne og Jordbærbuskene. Indhegningen bestod kun deri, at der blev nedrammet nogle korte Pæle til Tegn paa, at Jorden paa disse Steder skulde ligge urørt, forøvrigt var den ligesom den tilgrændsende udsat for Vind og Vejr. Under Kirsebærtræerne, hvor Undersøgelsen ogsaa fandt Sted, var det overflødigt, da Græsplænen her ikke blev gravet eller paa anden Maade forstyrret. Det bemærkes en Gang for alle, at der til de Undersøgelser, hvorom Talen nu er, kun blev benyttet Jord, som siden Efteraaret havde ligget urørt.

Fra de nævnte Steder blev der taget Prøver i Januar, Februar og Marts 1880. Jorden var i nogle Tilfælde stivfrossen, saa at jeg maatte hugge de til mine Undersøgelser nødvendige Portioner løs, i andre derimod optøt. Udfaldet blev imidlertid i alle Forsøgsrækkerne det samme, nemlig at Sacch. apiculatus var tilstede i Jorden og var levende. 30. Marts kom jeg paa en Rejse til det sydvestlige Sjælland og havde saaledes Lejlighed til at anstille de samme Forsøg i en fra Carlsberg fjernt liggende Have, nemlig i Egnen mellem Skjelskør og Nestved. Der blev i fire Flasker anbragt Prøver af Jorden under Stikkelsbærbuske og Kirsebærtræer. I de tre optraadte Sacch. apiculatus med en yppig Vegetation, i den fjerde fandtes den ikke. Den sidste af disse Forsøgsrækker blev anstillet i Juni, og da den kan tjene som et Exempel paa de foregaaende, meddeles den her udførligt.

I 29 af de foran beskrevne Kogeflasker blev der optaget Jordprøver: i 5 fra Blommetræerne, i 5 fra Stikkelsbærbuskene, i 5 fra Kirsebærtræerne, i 5 fra Jordbærbuskene, i 3 fra Lindetræerne i 6 fra Marken udenfor Haven. Derpaa bleve disse Flasker

stillede ind i et Skab med Arbejdsværelsets Temperatur og efter 5 og 6 Dages Forløb undersøgte.

Prøverne fra Blommetræerne:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Faa do.
IIII. Talrige do.
V. Talrige do.

Prøverne fra Stikkelsbærbuskene:

I. Temmelig faa Celler af Sacch. apiculatus.
II. Temmelig faa do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Temmelig faa do.
V. Temmelig talrige do.

Prøverne fra Kirsebærtræerne:

I. Temmelig faa Celler af Sacch. apiculatus.
II. Temmelig faa do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Talrige do.
V. Meget talrige do.

Prøverne fra Jordbærbuskene:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Temmelig faa do.
V. Temmelig talrige do.

Prøverne fra Lindetræerne:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Ingen do.

Prøverne fra Marken:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Ingen do.
IIII. Ingen do.
V. Ingen do.
VI. Ingen do.

en dobbelt Maade: ved Hjælp af Regnen og ved de nedfaldne Frugter. Men er dette Overvintringsstedet, tilbringer den her den lange Mellemtid fra Efteraaret, indtil den næste Sommer har frembragt nye Opfostringssteder for den? Dette Spørgsmaal besvares ad to Veje. I det ene Tilfælde tages der i Løbet af Vinteren og Foraaret talrige Prøver fra de Steder, hvor vi i Følge det Foregaaende vide, at den om Sommeren findes, og hermed anstilles der Dyrkningsforsøg i Kogeflaskerne og i fugtige Kamre, for at vi kunne erfare, om den er tilstede eller ej, og om den, for saa vidt den findes, er levende. I det andet Tilfælde anbringe vi selv om Efteraaret den lille Gjærsvamp i Jorden paa et bestemt Sted i Haven for at erholde Oplysning, om den her kan overvintre og holde sig levende til næste Sommer.

I Efteraaret 1879 fik jeg ved Gartnerens Velvillighed nogle Pletter Jord indhegnede under Stikkelsbærbuskene, Blommetræerne og Jordbærbuskene. Indhegningen bestod kun deri, at der blev nedrammet nogle korte Pæle til Tegn paa, at Jorden paa disse Steder skulde ligge urørt, forøvrigt var den ligesom den tilgrændsende udsat for Vind og Vejr. Under Kirsebærtræerne, hvor Undersøgelsen ogsaa fandt Sted, var det overflødigt, da Græsplænen her ikke blev gravet eller paa anden Maade forstyrret. Det bemærkes en Gang for alle, at der til de Undersøgelser, hvorom Talen nu er, kun blev benyttet Jord, som siden Efteraaret havde ligget urørt.

Fra de nævnte Steder blev der taget Prøver i Januar, Februar og Marts 1880. Jorden var i nogle Tilfælde stivfrossen, saa at jeg maatte hugge de til mine Undersøgelser nødvendige Portioner løs, i andre derimod optøt. Udfaldet blev imidlertid i alle Forsøgsrækkerne det samme, nemlig at Sacch. apiculatus var tilstede i Jorden og var levende. 30. Marts kom jeg paa en Rejse til det sydvestlige Sjælland og havde saaledes Lejlighed til at anstille de samme Forsøg i en fra Carlsberg fjernt liggende Have, nemlig i Egnen mellem Skjelskør og Nestved. Der blev i fire Flasker anbragt Prøver af Jorden under Stikkelsbærbuske og Kirsebærtræer. I de tre optraadte Sacch. apiculatus med en yppig Vegetation, i den fjerde fandtes den ikke. Den sidste af disse Forsøgsrækker blev anstillet i Juni, og da den kan tjene som et Exempel paa de foregaaende, meddeles den her udførligt.

I 29 af de foran beskrevne Kogeflasker blev der optaget Jordprøver: i 5 fra Blommetræerne, i 5 fra Stikkelsbærbuskene, i 5 fra Kirsebærtræerne, i 5 fra Jordbærbuskene, i 3 fra Lindetræerne i 6 fra Marken udenfor Haven. Derpaa bleve disse Flasker

stillede ind i et Skab med Arbejdsværelsets Temperatur og efter 5 og 6 Dages Forløb undersøgte.

Prøverne fra Blommetræerne:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Faa do.
IIII. Talrige do.
V. Talrige do.

Prøverne fra Stikkelsbærbuskene:

I. Temmelig faa Celler af Sacch. apiculatus.
II. Temmelig faa do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Temmelig faa do.
V. Temmelig talrige do.

Prøverne fra Kirsebærtræerne:

I. Temmelig faa Celler af Sacch. apiculatus.
II. Temmelig faa do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Talrige do.
V. Meget talrige do.

Prøverne fra Jordbærbuskene:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Temmelig faa do.
IIII. Temmelig faa do.
V. Temmelig talrige do.

Prøverne fra Lindetræerne:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Ingen do.

Prøverne fra Marken:

I. Ingen Celler af Sacch. apiculatus.
II. Ingen do.
III. Ingen do.
IIII. Ingen do.
V. Ingen do.
VI. Ingen do.

I 20 Prøver af Jorden under Frugttræerne og Frugtbuskene fandtes altsaa Sacch. apiculatus i de 16, og den var her levende. Under Lindetræerne og i Markjorden iagttoges derimod intet Spor deraf. Af disse Undersøgelser maa man slutte, at den hele Vinteren over og indtil Midten af Juni har opholdt sig i Jorden og her bevaret sin Livskraft. Den fandtes saavel i de øvre som i de lidt dybere Lag. Værd er det at lægge Mærke til, at disse Analyser bleve foretagne, førend de første modne, søde, saftige Frugter, Opfostringsstederne for Aarets nye Generationer, optraadte.

Den anden Undersøgelse, hvorved Spørgsmaalet om Overvintringsstedet søgtes løst, var følgende: 2. November 1879 bleve 2 Urtepotter med Grenjord, 2 do. med fed, leret Jord, 2 do. med Sand inficerede med sund, kraftig Gjær af Sacch. apiculatus. Urten, der havde tjent som Næringsvædske, blev hældt fra Gjærbundfaldet, hvorpaa dette blandedes med Vand og derefter gødes ud i Jorden og Sandet. Omtrent 1½ Tomme fra Pottens øverste Rand blev der lagt et Stykke Glas som Mærke, og her fandt den første Overgydning med Gjær Sted. Derpaa blev Urtepotten fyldt med Jord eller Sand, eftersom der i Forvejen fandtes dette eller hint deri. De øverste Sand- og Jordlag bleve endelig tilsidst inficerede som de foregaaende. Disse Urtepotter stillede jeg i Haven i to Kasser med Traadnæt som Laag. Næste Aar i Begyndelsen af Marts foretog jeg i Kogeflasker Kulturforsøg med Jord- og Sandprøver fra to af dem. Heraf fremgik, at Sacch. apiculatus havde holdt sig levende i de først- men ikke i de sidstnævnte Prøver. En lignende Analyse i April gav samme Resultat. 14. Juni, da, som foran bemærket, Aarets nye Opfostringssteder for den lille Gjærsvamp endnu ikke vare udviklede, bleve de øvrige Urtepotter undersøgte. Det viste sig, at Sacch. apiculatus var levende tilstede i alle Jordprøverne uden Undtagelse; derimod ikke i en eneste af Sandprøverne.

8. Januar 1880 gjentoges dette Forsøg med en lille Ændring. Der blev hertil benyttet et lignende Antal Urtepotter som i det foregaaende Tilfælde, og de bleve behandlede paa samme Maade som tidligere, dog bleve de denne Gang ikke hensatte i Kasser, men gravede ned i Havejorden saaledes, at deres øverste Rand var i Flugt med dennes Overflade. Nogle lignende Urtepotter, ligeledes med Jord og Sand, men uden Infektion, bleve til Sammenligning nedgravede ved Siden af de førstnævnte. De stode alle ubedækkede hele Vinteren og Foraaret til 5. Juni, da Forsøget blev afbrudt. Ved Undersøgelsen af de sidst omtalte fandtes, som man maatte vente, intet Spor af Sacch. apiculatus. Alle Ana-

lyserne af de inficerede gave derimod det Resultat, at saavel Jorden som Sandet indeholdt talrige typiske og levende Celler af den. De udgydte Gjærceller havde altsaa overvintret saavel i Jorden som for den sidste Forsøgsrækkes Vedkommende tillige i Sandet i den frie Natur, og i den første Forsøgsrække tilbragt over 7, i den sidste over 5 Maaneder paa denne Maade. Den livlige Gjæring og rige Knopskydning, som fandtes i alle Kulturerne dermed, gav fuldstændig Sikkerhed for, at den var levende.

Det er saaledes bevist, at Sacch. apiculatus tilbringer Vinteren i Jorden. At dette er dens egentlige Vinteropholdssted, maa vi slutte deraf, at vi enten slet ikke eller kun rent undtagelsesvis paa denne Aarstid finde den andre Steder. Vi benytte samme Art Bevisførelse og samme Methode som tidligere.

Der skal altsaa søges efter den paa alle de Steder, hvor vi kunne tænke, at den muligvis var tilstede: I Støvet paa Bygninger, paa Træer og inde i Lysthuset, navnlig paa saadanne Punkter, hvor det i Efteraaret er blæst ind og siden den Tid har ligget mere eller mindre uforstyrret; paa Frugttræernes og Frugtbuskenes Bark, Grene og Kviste; paa de tilstedeværende Frugter og Blade og endelig i Exkrementer. Disse Undersøgelser bleve foretagne fra Januar til Midten af Juni 1880. De undersøgte Frugter vare af: Pyrus, Ligustrum, Cratægus, Berberis, Symphoricarpus, Ilex Aquifolium, Taxus baccata og indskrumpne, brune Druer, som i den foregaaende kolde Sommer ikke vare blevne modne. Af Exkrementer bleve Koens, Hestens og Menneskets undersøgte. Iblandt 71 Analyser, Luftanalyserne ikke medregnede, viste kun de 3 et Spor af Sacch. apiculatus, nemlig i 2 Kogeflasker, hvori der var anbragt Bark og Grenstykker fra Kirsebærtræerne og i 1 med de samme Dele fra Blommetræerne. Dette har imidlertid aldeles Tilfældighedens Præg, thi hverken i de tidligere eller i de senere paa de samme Steder og paa lignende Maade tagne Prøver fandtes den. Det Rimeligste er, at den af Blæsten er bleven hvirvlet op fra den støvede Jord. Hovedresultatet bliver, at vi, som Analyserne vise, almindelig finde den om Vinteren i Jorden under de Træer og Buske, hvis Frugter om Sommeren ere Opfostringssteder for den, og at dette er dens egentlige Vinteropholdssted.

Mine Undersøgelser over Mikroorganismernes Optræden i Luften stemme ogsaa hermed. Sacch. apiculatus iagttoges saaledes i 1879 ligesom i det foregaaende Aar sidste Gang i Begyndelsen af Novbr., derpaa optraadte den først atter næste Aar i Maj Maaned, men ligeledes kun med en ringe Vegetation. En af

de første Dage af August bragte derimod en Vegetation, der tydelig viste, at den da var tilstede i Mængde i Luften. Man maa nu ikke tro, at denne om Vinteren er blottet for Mikroorganismer. Nej, endog i den iskolde Frostluft findes de, og paa de hendøende, raadne og i Dvale værende Plantedele lever en Vrimmel, hvis Konidier navnlig kunne hvirvles op, men Sacch. apiculatus optræder regelmæssig ikke.

Undersøgelserne have altsaa vist os, at denne Gjærsvamp findes almindelig paa modne, søde, saftige Frugter, og at disse ere dens normale Opfostringssted. Efterhaanden som Frugternes Antal tager til, bliver Luften rundt om i Haven rigere paa den, idet talrige Generationer fostres og med Vinden føres omkring. At den paa denne Maade ogsaa tilfældigvis kan blive aflejret i Støvet paa umodne Frugter følger af sig selv og er iagttaget. Pasteur's Sætning om, at Gjærsvampene kun findes paa modne Druer, gjælder derfor ej ubetinget. Nu, da vi have fundet Hovedreglens Forklaring, indse vi ogsaa Grunden til Undtagelsen. Naar Sacch. apiculatus af Luftstrømninger føres hen paa umodne Druer eller andre umodne Frugter, kommer den paa et ugunstigt Sted, hvor den ikke kan formere sig, og hvor den vel hurtig gaar tilgrunde. Dette er Aarsagen til, at man kun undtagelsesvis finder den her. Det Samme gjælder ogsaa om det Støv, der aflejres paa Grene og tørre Frugter f. Ex. af Lind, Ahorn o. s. v. Den iagttages regelmæssigt først paa de tidligst modne søde, saftige Frugter og derefter paa de senere modne. I Carlsberg Have begynder den saaledes Sæsonen med Jordbærrene, Stikkelsbærrene og Kirsebærrene og slutter den med Blommerne og Vindruerne. Det er dog ikke hvert Aar, at de sidstnævnte modnes i vort Klima, og i Overensstemmelse hermed er den, som vi have hørt, heller ikke altid almindelig i Jorden under Vinrankerne. Som man maatte vente, er det først, naar Haven nogen Tid har haft modne Frugter af den ofte omtalte Art, at man kan finde en nogenlunde rigelig og almindelig Vegetation af vor Gjærsvamp. Derfor sker det ikke sjældent i den første Modningstid, at vore Kulturer f. Ex. med Hindbær, Jordbær og Kirsebær kun give negative Resultater, men det er interessant at se, hvorledes Sacch. apiculatus i de efterhaanden med faa Dages Mellemrum anstillede Dyrkningsforsøg bliver hyppigere og hyppigere, indtil det viser sig, at den findes paa næsten enhver moden, sød og saftig Frugt. Med Regnen og med de nedfaldne Frugter føres den ned i Jorden. Her overvintrer den, og næste Sommer begyndes det samme Kredsløb paany. Mine Undersøgelser over Luftens Mikroorganismer vise hen til, at den

af Blæsten i tørre Perioder kan hvirvles op med Jordens Støv. At Regnen kan piske den op paa lave Planter f. Ex. Jordbærbuske, har jeg direkte iagttaget. Insekter og andre Smaadyr kunne ligeledes spille en Rolle i den Retning.

Idet vi saaledes have faaet det stillede Spørgsmaal besvaret, rejser der sig som sædvanlig strax et andet, nemlig det: I hvilken Tilstand, i hvilken Skikkelse tilbringer Sacch. apiculatus den lange Tid i Jorden? De Forsøg, som i denne Retning bleve paabegyndte i 1879, mislykkedes. I Aar har Udfaldet været heldigere, saa at jeg allerede i Øjeblikket kan meddele, at Cellerne, efterat være blevne anbragte i almindelig Havejord for næsten to Maaneder siden, nu i Slutningen af December 1880, da denne Afhandling trykkes, ikke blot, som vi af det Foregaaende kunne vide, have bevaret deres Livskraft, men ogsaa deres sædvanlige Skikkelse. Vejrliget har i den nævnte Tid været meget vexlende: Frost, Sne, Regn, Blæst, stille Vejr, Solskin, tør og fugtig Luft. I flere Dage ad Gangen have de øverste Jordlag været frosne og bedækkede med Sne. Da de udsaaede Celler altsaa ikke efter saa lang Tids Forløb ere gaaede over i nye Former, er det ikke rimeligt, at saadant vil ske i Løbet af den øvrige Overvintringsperiode. En udførligere Beretning om disse nye Forsøg vil forøvrigt i sin Tid blive meddelt i dette Tidsskrift. Ogsaa i tørrede Gjærpræparater findes Cellerne efter Maaneders Forløb endnu i deres sædvanlige Skikkelse, men stærkt lysbrydende og uden Vakuoler. Se Bemærkningerne i det Følgende, p. 321.

Pasteur foretager i sin sidst omtalte Bog, p. 74, en Sammenligning imellem den Maade, hvorpaa Saccharomyces- og Mucorformerne optræde; disse to Slægter stilles i den Retning som Modsætninger til hinanden, idet der om den sidstnævnte siges, at den findes hele Aaret i Jorden, hvilket ikke skal være Tilfældet med den førstnævnte. Hvad Meddelelsen om Mucorformerne angaar, da kan jeg bekræfte Rigtigheden deraf, men maa tillige fremhæve, at Saadant ogsaa gjælder for en stor Skare andre Svampe, og at de om Vinteren ikke blot regelmæssig findes i Jorden, men ogsaa ovenover denne, i Luftens Støv, paa Frugter, Grene o. s. v. Pasteur's Sætning om Saccharomycesformernes Optræden er derimod, som den foregaaende Undersøgelse har vist, urigtig, idetmindste med Hensyn til den ovenfor omhandlede Art. Om de øvriges Kredsløb i den frie Natur vides endnu intet Sikkert. Brefeld's Anskuelse har ligesaa lidt som Pasteur's fundet Støtte i dette Arbejde.

Til Slutning kan jeg meddele, at der til denne Undersøgelse er udført over tusinde Analyser. Jeg har imidlertid med Forsæt

undladt at meddele en detailleret Fremstilling deraf, da en saadan kun vilde blive rig paa trættende Gjentagelser og uden Nytte bringe Afhandlingen til at svulme. Dette store Apparat har dog ikke været sat i Værk alene til Opklaring af de foreliggende Spørgsmaal, men har tillige havt til Hensigt at bringe Kundskab om forskjellige andre Mikroorganismers Færd og Optræden i den frie Natur, og en stor Del deraf danner en ligefrem Fortsættelse af de i dette Tidsskrifts 2. Hefte publicerede Undersøgelser fra 1878 over Luftens Mikroorganismer.

I Begyndelsen af denne Afhandling har jeg berørt, at det vistnok kun er een Gjærsvampeart, nemlig Sacch. cerevisiæ, der anvendes i Gjæringstekniken. Det er imidlertid ikke paa Grund af en nøje Prøvelse, at netop denne Art hertil er bleven udvalgt, men det skyldes tvertimod en Tilfældighed. Efterhaanden som Gjærings-fysiologien har erobret sig større Omraade, er Spørgsmaalet ogsaa kommet frem, om det ikke kunde være hensigtsmæssigt at indfange en eller flere af de i den frie Natur levende vilde Gjærformer for i Industriens Tjeneste at tage dem i planmæssig Kultur. Muligvis kunde der ad den Vej opnaas Produkter, som ikke blot vare forskjellige, men tillige i visse Retninger bedre end dem, vi nu tilvirke ved Hjælp af Sacch. cerevisiæ. Førend denne Tanke kan virkeliggjøres, maa vi dog først vide nøjere Besked om Gjærsvampenes Optræden i den frie Natur og om deres morfologiske og fysiologiske Ejendommeligheder.

Det foregaaende Afsnit af denne Afhandling har for en af Arternes Vedkommende givet et Bidrag i den førstnævnte Retning; de følgende have til Hensigt at bringe Oplysning om de sidstnævnte Forhold.

Aarsagen til, at jeg valgte Sacch. apiculatus til mine Undersøgelser var, som allerede meddelt, fornemlig den, at denne udprægede Art med sin let kjendelige karakteristiske Form for første Gang tillod heltud at forfølge Spørgsmaalet om en Gjærsvamps Opfostrings- og Overvintringssted, om dens Kredsløb i den frie Natur. Denne Art yder imidlertid ogsaa et gunstigt Objekt til udviklingshistoriske og experimentelle fysiologiske Undersøgelser.

Som de øvrige Saccharomyces-Arter formerer den sig i en gjæringsdygtig Næringsvædske ved Knopskydning.

Reess meddeler herom i sit fortjenstfulde Skrift[1]), at denne kun foregaar fra Modercellens Poler, og at Knoppen, førend den aldeles løsnes, skydes til Side, saa at den kommer til at danne en ret Vinkel med Modercellen. De nydannede Celler betegnes som elliptiske, og først efterat være blevne frie faa de Citronformen. Hvorledes dette gaar til siges ikke. Mangecellede Kolonier opstaa aldrig. Engel[2]), som specielt har studeret denne Gjærart, er dog ikke kommen ud over, hvad Reess har givet. Der er i de omtalte

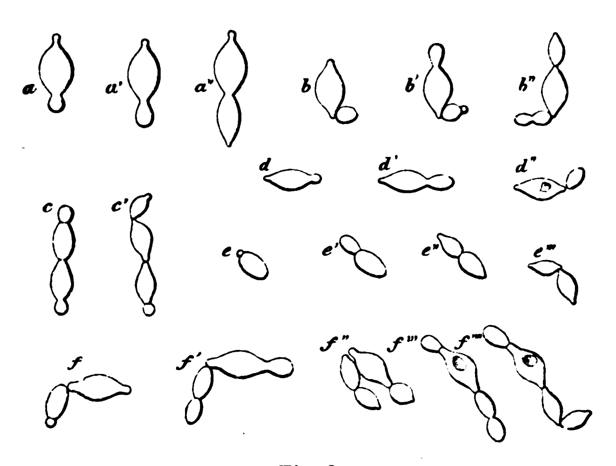


Fig. 2.

Celler af Sacch. apiculatus i Knopskydning: *a* en Celle, som Kl. $10^1/_2$ fra sin nedadvendte Ende har begyndt at udskyde en Knop, *a'* og *a''* vise dennes fortsatte Udvikling efter $1^1/_2$ og $3^1/_4$ Times Forløb; *b*—*b''* en lignende Udviklingsrække, men her har Knoppen udviklet sig fra Modercellens opadvendte Ende, medens der fra den modsatte Ende allerede ved Iagttagelsens Begyndelse, *b*, var afsnøret en tidligere dannet Knop, dennes fortsatte Udvikling i Løbet af 2 og 3 Timer ses i *b'* og *b''*, sidstnævnte Afbildning viser os Cellerne i en anden Stilling end de foregaaende; *c* er en Cellerække, *c'* samme $^3/_4$ Time senere, den nederste Knop havde ligesom de ovenfor værende Celler erholdt Artens typiske Form, men i Afbildningen ses den fra Enden saaledes, at dens Længdeaxe maa tænkes at danne en ret Vinkel med Papirets Plan; *d* Kl. $2^1/_2$, *d'* Kl. $3^1/_4$, *d''* Kl. $3^3/_4$; *e* en oval Celle med Knop Kl. $10^3/_4$, *e'* Kl. 12, *e''* Kl. $12^3/_4$, *e'''* Kl. 1; *f* Kl. $2^1/_2$, *f'* Kl. $3^1/_4$, *f''* Kl. 4, alle Cellerne have nu opnaaet Citronformen, *f'''* Kl. 5, den fortsatte Udvikling af de to Celler tilhøjre i *f''*, *f''''* Kl. $5^1/_2$. (Forstørrelsen c. 950 Gange, lineær.)

---

[1]) l. c. p. 27.
[2]) l. c. p. 53 o. flg.

Oplysninger Rigtigt og Galt sammenblandet, og af det Følgende vil det erfares, at de nævnte Forskeres Undersøgelser ikke have været tilstrækkeligt dybtgaaende til at udklare de tilstedeværende temlig indviklede Forhold.

I Fig. 2 har jeg fremstillet 6 Udviklingsrækker, idet de med samme Bogstav betegnede Afbildninger høre sammen. De stamme alle fra Kulturer i Ranvier's Kamre med klar Humleurt som Næringsvædske og Arbejdsværelsets Temperatur.

Allerede af Fig. 1 p. 295 kunne vi lære, at de afsnørede Knopper ikke altid ere ovale men ofte have Artens typiske Citronform, og Fig. 2 viser dette tydeligere. Her frembyde Udviklingsrækkerne *a—a''*, *b—b''*, *c—c'*, *e—e'''* og *f—f''''* Exempler derpaa. Udgangspunktet, *f*, i den sidstnævnte Række viser os tillige, at en citronformet Celle kan afsnøre en oval; dette ses ogsaa i *d—d''*. Alle de iagttagne Knopper udviklede sig fra Modercellernes Ender. I Rækkerne *e—e'''* og *f—f''''* gjøre vi den interessante Iagttagelse, at de ovale Celler først danne en Knop, førend de selv antage den typiske Citronform. Det vil navnlig ikke være overflødigt at dvæle ved *e—e'''*. Her have vi ved Kulturens Begyndelse i *e* en oval eller næsten ægformet Celle med en lille Knop, i *e'* er sidstnævnte ikke blot bleven større, men Modercellen har ogsaa begyndt at tilspidse sig lidt i den modsatte Ende; i *e''* se vi, at denne Tilspidsning er fortsat og tillige, at Knoppen er i Færd med at antage den typiske Citronform; dette er fuldstændig sket i *e'''* saavel for Knoppens som for Modercellens Vedkommende. I den nævnte Henseende kom, som *e''* viser, Dattercellen endog sin Modercelle i Forkjøbet. Undertiden maa den ovale Modercelle gjennemgaa to eller flere Knopskydninger (Fig. 3, *j—j'*), førend den opnaar Citronformen, og den kan, ligesom naar Modercellen har Artens typiske Skikkelse, baade udvikle ovale og citrondannede Døtreceller.

Medens Ernæringsvilkaarene ere gunstige og Knopskydningen i livlig Gang, dannes der hyppig Kjeder af 4 Celler, som en kort Tid forblive forbundne. Det ses da ikke sjældent, at den typiske Citronform hurtig gaar tabt, ofte umiddelbart efter at den er opnaaet. Et Exempel derpaa frembyder Fig. 3, *k—k'''*, hvor vi i *k* have en oval Celle med en lille Knop, i *k'* er Knoppen bleven lidt større, og Modercellen har tilspidset sig; dette er et af de første synlige Tilløb til at erholde Artens typiske Form; i *k''* have saavel Moder- som Dattercellen modtaget denne, men under den strax indtrædende nye Knopskydning, som begynder i de frie tilspidsede

Ender af de to Celler (k'''), førend de have skilt sig ad, vendes der atter tilbage til den ovale Form. Denne kan, som Fig. 2, c—c' viser, igjen blive afløst af den citronformede, og saadanne Svingninger frem og tilbage kunne i det Uendelige fortsættes af de efterhaanden nydannede Individer, dog ikke regelløst. Aarsagerne skulle vi drøfte i det Følgende.

Hos de Arter, som opstilles under Slægten Saccharomyces, er det temmelig almindelig at finde pølseformede, abnorme Celler ofte med barok Form. Dette er ogsaa undertiden Tilfældet med Sacch. apiculatus; Fig. 3, l—l''''' og m—m'''' forestille to Udviklingsrækker af saadanne Celler. Den førstnævnte (l—l''''') viser os en pølsedannet Modercelle, der efterhaanden fra begge sine Ender udvikler aldeles typiske Døtreceller, først fra den opadvendte, derpaa fra den nedadvendte Ende. Noget Lignende er Tilfældet med Rækken m—m'''', hvor Modercellens Form imidlertid nærmest kan lignes med en Hætte eller en Halvmaane. Det er kun ved nøjagtigt at studere disse Cellers Knopskydning, at vi kunne overbevise os om, at de virkelig høre til vor Art. Saavidt mine Iagttagelser gaa, maa jeg antage, at de ikke som de ovale Celler gjennem Knopskydning kunne erholde den typiske Citronform; deres hele Figur synes ogsaa ligesom at forbyde en saadan Omdannelse. De smaa i Rækkerne g—g'' og h—h'' afbildede Celler kunne egentlig ogsaa

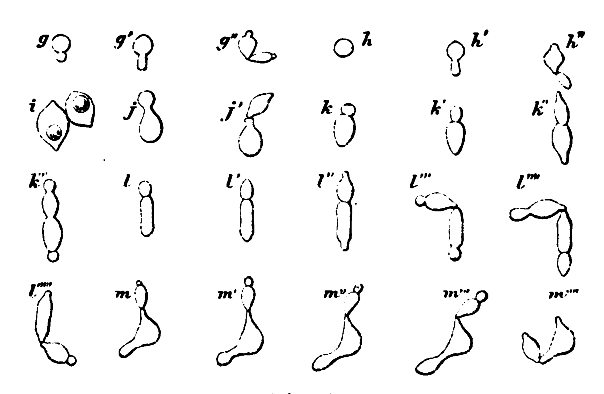


Fig. 3.

Celler af Sacch. apiculatus; de fleste i Knopskydning: g Kl. $3^{3}/_{4}$, g' Kl. $5^{1}/_{4}$, g'' Kl. $6^{1}/_{2}$; h Kl. $10^{1}/_{4}$, h' Kl. $1^{3}/_{4}$, h'' Kl. $2^{1}/_{2}$; i to typiske Celler, hver med sin stærkt lysbrydende Kugle; j Kl. $10^{1}/_{2}$, j' Kl. $1^{1}/_{4}$; k Kl. $10^{1}/_{2}$, k' Kl. $12^{1}/_{2}$, k'' Kl. $1^{1}/_{2}$, k''' Kl. $2^{1}/_{4}$; l Kl. 7, l' Kl. 8, l'' Kl. 8 og 5 Minutter, l''' Kl. $8^{1}/_{4}$, l'''' Kl. $9^{1}/_{2}$, l''''' Kl. 10; m Kl. $6^{1}/_{2}$, m' Kl. $6^{3}/_{4}$, m'' Kl. 7, m''' Kl. $7^{1}/_{4}$, m'''' Kl. $7^{3}/_{4}$. (Forstørrelsen c. 950 Gange, lineær.)

paa Grund af deres Lidenhed henregnes til de abnorme. I begge ses det, at den lille, næsten kuglerunde Celle, der var Udgangspunktet, efterhaanden gjennem Knopskydningen naar Artens typiske, citronlignende Skikkelse. I *g—g''* afsnøres en pølseformet Celle. Fig. 3, *i*, viser det sjældne Forhold, at der i hver af de to fremstillede typiske Celler har udviklet sig en stærkt lysbrydende Kugle. Reess har bemærket det samme Fænomen. De i Fig. 3 aftegnede Udviklingsrækker stamme ligesom de foregaaende fra Kulturforsøg i Ranvier's Kammer ved Arbejdsværelsets Temperatur; Næringsvædsken var her dog i *g—g''* Æblesaft og i *h—h''* Blommesaft, forøvrigt klar Humleurt.

Lade vi de rent abnorme Knopper, hvilke ogsaa kun undtagelsesvis forekomme, ude af Betragtning, saa bliver Hovedresultatet af de foregaaende Undersøgelser dette: At der ikke, som Reess og Engel lære, afsnøres een Art Knopper, men regelmæssig to, og at der i de ovale Knoppers Udviklingsgang gjør sig den Lov gjældende, at de for at opnaa Artens typiske Skikkelse maa gjennemgaa en eller flere Knopskydninger.

For Kortheds Skyld har jeg betegnet alle de runde og mere eller mindre elliptiske Knopper som ovale.

Paa det Punkt i Undersøgelsen, hvortil jeg er naaet, maa naturligt det Spørgsmaal komme frem, hvornaar og under hvilke Betingelser hver af de to Arter Knopper udvikles. Af det Foregaaende fremgaar det, at Grunden ikke kan søges i Modercellens Form. Man ledes da hen paa at efterspore den i Ernæringsforholdene. Allerede ved i Tanken at sammenligne de Celler, der i Begyndelsen ere tilstede i Dyrkningsforsøgene i de fugtige Kamre, naar Knopskydningen har begyndt, med dem, der findes sammesteds efter f. Ex. et Døgns Forløb, faar man det Indtryk, at de ovale Cellers Antal er blevet forholdsvis stærkere forøget end de citronformedes, og har man særlig havt sin Opmærksomhed henvendt paa disse Forhold, vil man erfare, at de først udviklede Knopper næsten uden en eneste Undtagelse ere citrondannede. I Kulturens Begyndelse, medens Ernæringsvilkaarene fornemlig ere gunstige, dannes der følgelig forholdsvis flere citronformede end ovale Celler, hvorimod det Omvendte senere indtræder, naar en Del af Næringen er bleven forbrugt, og der er dannet Kulsyre, Alkohol o. s. v. i Stedet derfor. Dette Resultat beror imidlertid kun paa et Skjøn. Den exakte Undersøgelse kan foretages paa følgende Maade:

I et fugtigt Kammer med klar Humleurt som Næringsvædske anbringes nogle faa Celler af Sacch. apiculatus, f. Ex. 2—3. Efter

med Omhyggelighed at have undersøgt hele Præparatets Indhold tælles de tilstedeværende Celler, det noteres hvormange ovale og citronformede der findes, og med korte Mellemrum gjentages dette i Løbet af et Døgn. Navnlig i Forsøgets Begyndelse maa man være meget opmærksom og bør da især foretage hyppige Tællinger. I et saadant Forsøg, som begyndte Kl. 11 Form. med lige mange ovale og citrondannede, viste det sig, at de sidstnævnte Kl. 3 vare blevne de talrigste. De citronformede Cellers Antal blev derpaa endnu en Tid forholdsvis stærkere forøget, men Kl. 6 var Ligevægten atter vendt tilbage. I Løbet af Aftenen og Natten fik de ovale Celler bestandig mere Overvægt saaledes, at der næste Morgen fandtes dobbelt saa mange af dem som af de citronformede. Nogle af disse Celler bleve overførte i to andre Kamre, *A* og *B*, ligeledes med klar Humleurt som Næringsvædske. Kl. $10^{3}/_{4}$ fandtes i *A* 6 ovale og 1 citronformet Celle; omtrent Kl. 3 ligemange af begge Slags; Kl. $8^{1}/_{2}$ Aften dobbelt saa mange citronformede som ovale; næste Dags Formiddag ligemange af begge. Kl. $10^{3}/_{4}$ indeholdt *B* kun ovale Celler; Kl. $2^{1}/_{2}$ ligemange af begge Slags; Kl. $8^{1}/_{2}$ Aften dobbelt saa mange citronformede som ovale; næste Dags Formiddag flere ovale end citrondannede, Forholdet var nemlig som $^{3}/_{2}$. I Hovedtrækkene har altsaa den samme Udviklingscyklus gjentaget sig i ethvert af de omtalte Tilfælde. Det kan her bemærkes, at alle de fra Begyndelsen udsaaede ovale Celler naaede den typiske Form gjennem een Knopskydning. Ogsaa i andre lignende Kulturer, men hvor Næringsvædsken var Blomme-, Æble- eller Vindruesaft, viste det sig, naar Forsøgene havde varet et Døgn eller længere, at der da fandtes en overvejende Mængde af de ovale Celler. For yderligere Sikkerheds Skyld anstillede jeg tillige Prøven efter en anden Methode: I tre Pasteurske tohalsede Kolber, hver indeholdende 200 Kub.-Cent. klar steriliseret Humleurt, blev der anbragt Celler af en Renkultur af Sacch. apiculatus. I de to Kolber indeholdt Udsæden flere ovale end citronformede og i den tredie ligemange af hver Art. Omtrent 8 Timer senere var i alle Kolberne Overvægten paa de citronformede Cellers Side, og efter 4 Døgns Forløb fandtes atter det omvendte Forhold, nemlig et større Antal ovale end citronformede. Bestemmelserne bleve foretagne ved Hjælp af Hæmatimetret.

Herved er det følgelig bevist, at de citronformede Celler navnlig dannes i Knopskydningens Begyndelse og da faa Overvægten, hvorimod de senere tilbagetrænges af de ovale.

Et nyt Spørgsmaal bliver det, om det er den under den første Knopskydning og Gjæring i Næringsvædsken dannede Kulsyre og Vinaand, som betinger, at der senere afsnøres ovale Knopper i Stedet for citrondannede, eller om Aarsagen hertil maa søges i andre Forhold i den omændrede Tilstand af Næringsvædsken eller maaske hos Gjærcellerne selv. Til ogsaa at bringe Opklaring herover udkræves der imidlertid en hel Række nye Undersøgelser.

I systematiske Beskrivelser af Sacch. apiculatus fremhæves det gjerne, at Cellen i sin Midte indeholder en stor Vakuole; dette er dog ikke en konstant Karakter men en Dannelse, som optræder i en enkelt bestemt Tilstand i Cellens Liv, nemlig naar den befinder sig under visse mere eller mindre ugunstige Ernæringsvilkaar. Anbringe vi i et fugtigt Kammer med klar Humleurt som Næringsvædske nogle Celler, hos hvilke Vakuoledannelsen er stærkt fremtrædende, saa varer det i Almindelighed ikke mere end en Times Tid, førend de alle blive udfyldte med ensartet, matgraa Protoplasma, og Vakuolerne forsvinde. Samtidig hermed er Udviklingen af citronformede Knopper rask i Gang. Paa de senere Stadier optræde Vakuolerne atter, navnlig naar Afsnøringen af de ovale Celler en Tid har havt Overvægt, og lader man Præparatet henstaa et Par Dage, blive de tilsidst meget stærkt udviklede. Noget Lignende iagttog jeg ogsaa i Massekulturerne i de ofte omtalte Kolber, ligeledes i fugtige Kamre, naar Næringsvædsken var Blomme-, Æble- eller Vindruesaft. I de to førstnævnte af disse var Vakuoledannelsen især meget stærkt fremtrædende, i Æblesaften endog i den Grad, at flere af Cellerne syntes at være helt udtømte og kun at bestaa af Væg uden Indhold. Der fandt ogsaa i alle de tre sidstomtalte Vædsker en langsommere og ringere Formering Sted end i Ølurten. Celler, som ved Lufttørring bringes i en Dvaletilstand, miste aldeles Vakuolerne.

Den citerede Afhandling af Reess indeholder Afbildninger af forskjellige abnorme Former, hvoraf vi blandt andet se, at Knopskydningen undtagelsesvis kan finde Sted paa andre Punkter end netop i Modercellens tilspidsede Ender[1]). Om de pølsedannede Celler meddeles, at de ofte fremkomme i Gjæringens Slutning og i Kulturer paa Kartoffel- og Gulerodskiver. Undertiden men langtfra altid er det paa denne Maade ogsaa lykkedes for mig at fremkalde disse Dannelser, ligeledes ved at udsaa Cellerne i Vand. I Urt, som var gjort stærk sur dels med Vinsyre dels med Fosforsyre, fremkom de ikke, ejheller naar Forsøgene bleve anstillede med

[1]) l. c. Taf. III, Fig. 10.

almindelig Urt i Kolber, som bleve tilsmeltede, saa at den under Gjæringen avlede Kulsyre ikke kunde slippe ud. Vi vide, kort sagt, i Øjeblikket ikke nærmere Besked om disse vistnok for alle Saccharomyces-Arter almindelige abnorme Udviklinger.

Reess's Forsøg paa ved Dyrkning af Cellerne paa forskjellige Substrater at fremkalde dels en Myceliedannelse og dels en Udvikling af Askosporer eller andre Fruktifikationsorganer førte til et negativt Resultat. Det Samme gjælder ligeledes om alle de af mig i den Retning anstillede Forsøg. Engel mener imidlertid at have opdaget en ny Fruktifikationsform hos denne Art, hvorved den skulde faa en vis Lighed med Slægten Protomyces[1]). Han meddeler, at han har opnaaet dette ved Kulturer paa fugtige Gibsblokke, men efter at have fortsat sine Forsøg i 6 Maaneder maatte han afbryde dem, uden at de bleve helt gjennemførte. Desuagtet henfører han paa Grund af den omtalte protomycesagtige Fruktifikation, som han antager, at der findes hos vor Gjærsvamp, denne til en ny Slægt, som han kalder Carpozyma. Hans Opfattelse er ikke senere bleven bekræftet, og da jeg ved at gjentage og udvide hans Forsøg ikke er kommet til samme Resultat som han, saa kan jeg ikke indse Andet, end at det er rigtigst med Pasteur og Reess at beholde det gamle Navn.

Til fysiologiske Experimenter med Mikroorganismer kræves der først og fornemlig en Renkultur med en ikke for sparsom Vegetation af livskraftige Celler. En saadan kan erholdes af Sacch. apiculatus paa følgende Maade: I et større Antal af de ofte omtalte Kogeflasker med steriliseret Urt som Næringsvædske anbringes Frugter, hvorom man i Forvejen har Grund til at antage, at Sacch. apiculatus findes derpaa, dog kun een Frugt i hver Flaske, og det paases endvidere, at dens Overflade ikke er bevoxet med Skimmelsvampe eller er altfor uren, hvilket Øjet med lidt Øvelse hurtigt opdager. En eller flere af disse Flasker vil i Regelen efter faa Dages Forløb indeholde en yppig og nogenlunde ren Vegetation af den ønskede Gjærsvamp. Om der er nogle Bakterier tilstede har mindre at sige, thi dem vil man som oftest temmelig let faa Bugt med ved Kultur i sure Vædsker. Vanskeligere bliver Forholdet derimod, naar der sammen med Sacch. apiculatus optræder andre Gjær- eller Skimmelsvampe. I saadanne Tilfælde vil det være

[1]) l. c. p. 52.

rigtigst strax at opgive Forsøget og begynde forfra. Har man paa den beskrevne Maade erholdt en brugelig Kultur, saa benyttes denne til Infektion af steriliseret Urt med lidt Vinsyre i en Pasteursk tohalset Kolbe. Efter et Par Dages Forløb er Gjæringen i Gang, og den gamle Næringsvædske hældes nu fra Gjæren, der ligger paa Kolbens Bund, hvorpaa ny af samme Art sættes til, alt med tilbørlig Forsigtighed, saa at Organismer udenfra holdes borte. Ved at foretage dette nogle Gange kan man tilsidst opnaa en fuldstændig Renkultur. Det kan ogsaa være heldigt strax at blande Urten i Kogeflasken med Vinsyre.

De første Forsøg, som jeg foretog med Sacch. apiculatus, viste mig, at den i Ølurt giver Alkoholgjæring, og at den forholder sig som en Undergjærform. I disse Retninger kan jeg følgelig bekræfte de tidligere Iagttagelser af Reess, Engel og Pasteur. Dens Fermentvirksomhed er imidlertid temmelig svag, den dannede saaledes aldrig over 1 Vol. % Alkohol, medens Sacch. cerevisiæ under lignende Forhold naaede op til 6. Der tænkes her og i det Følgende bestandig paa Undergjærformen. Til disse Forsøg benyttede jeg klar steriliseret Humleurt (13—14% Ball.) i Pasteurske tohalsede Kolber og i Flasker overbundne med Filtrerpapir; de bleve anstillede ved Temperaturer fra 5—32° C. Ved at anvende en mindre extraktrig Urt (c. 9% Ball.) fik jeg væsentlig det samme Resultat. Øllet af Sacch. apiculatus havde i de Forsøg, som bleve anstillede ved Temperaturer under 25° C., en behagelig Smag og Lugt; sidstnævnte mindede om Frugt; Kulsyrespændingen var ringe.

Som Exempel paa mine Syrebestemmelser kan anføres, at jeg i et Gjæringsforsøg (20—27° C.) med to ligestore og ensartede Portioner Urt, hvortil der var sat omtrent det samme Antal Gjærceller til hver, men i det ene Tilfælde Sacch. apiculatus, i det andet derimod Sacch. cerevisiæ, fandt den samme Syremængde i begge, idet der krævedes 2,4 Kub.-Cent. normal Natronopløsning til at mætte Syren i 100 Kub.-Cent. Øl. I Øllet af Sacch. apiculatus var der imidlertid kun dannet 1 Vol. % Alkohol, hvorimod Øllet af Sacch. cerevisiæ indeholdt 4,75. I et andet Forsøg (4—7° C.), hvor Øllet af Sacch. apiculatus havde 0,625 Vol. % Alkohol, iagttoges derimod kun en Syremængde med en Mætningsgrad af 1,32 Kub.-Cent. normal Natronopløsning; i det tilsvarende Øl af Sacch. cerevisiæ blev Syremængden mættet med 1,28 Kub.-Cent. normal Natronopløsning, medens Alkoholmængden beløb sig til 4,25 Vol. %. Idet 1 Kub.-Cent. af den omtalte Natronvædske svarer til 0,09 Gr. Mælkesyre, haves for 2,4 Kub.-Cent. 0,216 Gr. og for 1,32 Kub.-Cent. 0,1188 Gr. Af dette ses altsaa, at der i

de paa lignende Maade anstillede Forsøgsrækker med Sacch. apiculatus og Sacch. cerevisiæ ved Hovedgjæringens Slutning dannedes i det Hele ligestore Syremængder (Kulsyren ikke medregnet, hvorimod der samtidig hermed i Øllet af sidstnævnte Gjærsvamp bestandig fandtes en betydelig større Mængde Alkohol end i Øllet af førstnævnte.

Under mine fortsatte Experimenter med denne Gjærart gjorde jeg den interessante Iagttagelse, at den i Modsætning til, hvad vi ellers vide om Saccharomycesformerne, ikke formaar at udsondre Invertin og derfor ej heller er istand til at forgjære Rørsukker[1]).

Dette kemiske, opløselige Ferment findes blandt andet i et vandigt Udtræk af Bryggerigjær og kan heraf udfældes med Alkohol. Ved at filtrere Vædsken fra det erholdte Bundfald faar man Invertinet tilbage paa Filteret, rigtignok blandet med Æggehvidestoffer, hvilket for vort specielle Formaal imidlertid ingen Betydning har. Jeg benyttede Filtrerpapir som Filter og lod Fermentet indtørre herpaa, idet jeg efter Filtreringens Slutning lagde Papiret sammen som to Blade i en Bog saaledes, at Fermentet blev optaget imellem dem. Saavidt jeg erindrer, er det den franske Kemiker, Berthelot, som først har angivet denne Fremgangsmaade. Af Erfaring kan jeg meddele, at dette Invertinpapir bevarer sin Fermentevne flere Maaneder ved almindelig Stuetemperatur. Det er en bekvem Maade, hvorpaa man bestandig kan have et Præparat af dette Ferment ved Haanden.

Førend jeg beskriver selve Forsøgene, maa jeg endnu forudskikke nogle Oplysninger om Alkoholreaktioner, om Bestemmelser ved Hjælp af Abbe's Refraktometer og om den anvendte Rørsukkeropløsning.

En af de fineste Reaktioner paa Vinaand er ubestrideligt Lieben's. Det er vistnok ogsaa den, der hyppigst anvendes af Kemikere og Fysiologer, naar det gjælder om i stærkt fortyndede Destillater at paavise Vinaand. Udebliver det krystallinske Jodoform-Bundfald, da er dette nemlig efter vor nuværende Viden et sikkert Tegn paa, at det søgte Stof ikke findes. Men vi kunne ikke omvendt slutte, at det er tilstede, naar Reaktionen indtræder,

---

[1]) Gayon har fornylig hos visse Skimmelsvampe paavist noget Lignende: Faits pour servir a l'histoire physiologique des moisissures (Mém. de la soc. des sciences phys. et naturelles de Bordeaux 1878 p. 249). Sur un procédé nouveau d'extraction du sucre des mélasses (Annales agronomiques 1880).



thi den er fælles for en stor Mængde forskjellige Forbindelser. Hertil høre ogsaa Rør-, Drue- og Mælkesukker. Ved Destillation af Vædsker, hvori disse Stoffer tillige med Gjærceller indeholdes, kunne endog ved svag Kogning de sidstnævnte og altsaa endnu lettere Sukkerpartikler rives med Dampene over i Forlaget, der optager Destillatet til Jodoformprøven. Har man derfor ikke anvendt en meget stor Forsigtighed ved Kogningen eller blot været lidt uheldig, saa kan man let paa denne Maade f. Ex. fra en ren Rørsukkeropløsning, hvori der i Virkeligheden ej findes Spor af Alkohol, dog faa Reaktion derpaa.

Som Kontrol benyttede jeg af denne Grund en anden fin Prøve, nemlig Pasteur's Draabereaktion. Den er kun lidet kjendt, og da den idetmindste i mange Tilfælde er at foretrække for den ovennævnte, vil en kort Beskrivelse deraf ikke være overflødig. Fremgangsmaaden bestaar deri, at man anbringer den Vædske, som skal undersøges, i en Retorte med en temmelig lang Hals og derpaa bringer den i Kog ved en ikke for stærk Varme. De første Draaber, som, naar Kogningen begynder, komme frem inde paa Halsens koldere Vægge, iagttages nøje. Dersom der er Alkohol tilstede, ville de vise sig som Taarer eller som olieagtige Draaber med lang Hale, en Form aldeles forskjellig fra den, de rene Vanddampe ved Afkjøling kunne antage. Dersom Vinaand maa antages at være tilstede i overordentlig ringe Mængde, er det rigtigst at sætte Retorten i Forbindelse med et Liebigsk Svaleapparat, og hvis Draabereaktionen ikke viser sig i det første Destillat, kan man ved Omdestillation søge det i det andet eller tredje. Denne Fremgangsmaade har for vort Formaal den store Fordel, at en ren Sukkeropløsning ikke herved giver Reaktion for Alkohol.

Som et Hjælpemiddel anvendte jeg endvidere Abbe's Refraktometer. Hermed blev Sukkeropløsningernes Brydningsevne bestemt, efter at Gjæren og Invertinpapiret, for saavidt samme blev anvendt, var sat til. I de Tilfælde, hvor der indtræder Alkoholgjæring, bliver Vædskens Brydningsindex mindre end den ved Forsøgets Begyndelse aflæste, udebliver derimod Gjæringen, faar man enten den samme eller, hvis en kjendelig Fordampning har fundet Sted, en større Index. Som Udgangspunkt indstilles Instrumentets Skala saaledes, at destilleret Vand viser en Brydningsindex af 1,333. Man kan dermed i de store Træk forfølge en Gjærings Gang og, naar man i Forvejen har udarbejdet en Tabel, foretage nogenlunde nøjagtige Bestemmelser dermed. Da der kun kræves en Draabe til Undersøgelsen, gjør Apparatet især god Nytte i Experimenter med smaa Vædskedele; ligeledes naar man uden at ville forstyrre

eller helt afbryde en Gjæring f. Ex. i en Pasteursk tohalset Kolbe, dog ønsker at vide, hvorvidt Gjæringen er skreden frem.[1])

Rørsukkeropløsningerne, som bleve anvendte i de følgende Forsøg, vare klare, steriliserede og indeholdt c. 10 % Saccharose. 200 Kub.-Cent. deraf var anbragt i hver af de benyttede Pasteurske tohalsede Kolber; disse rummede hver ½ Liter. Før Forsøgets Begyndelse blev alle Kolbers Indhold prøvet med Fehling's Vædske, for at jeg med Sikkerhed kunde vide, om der virkelig var en ikke inverteret Saccharose tilstede. Denne og de øvrige Manipulationer bleve udførte med Pasteursk Forsigtighed for at undgaa Infektion af fremmede Organismer.

Nedenfor meddeles en af de mest oplysende Forsøgsrækker iblandt dem, jeg med Hensyn til det ovenfor berørte Spørgsmaal har udført.

27. Febr. 1880 blev der til en Rørsukkeropløsning i 4 Kolber, ***A***, ***B***, ***C***, ***D***, sat Gjær fra en Renkultur med sunde, normale Celler af Sacch. apiculatus. Gjæren blev i Forvejen udvasket med destilleret Vand i en femte Kolbe for at fjerne Vinaanden og det direkte gjæringsdygtige Sukker, som var tilstede fra den tidligere Kultur. Efterat hver af de 4 førstnævnte Kolber havde modtaget sin omtrent ligestore Portion Gjær, blev der i *A* anbragt nogle Strimler Invertinpapir, og Brydningsindex bestemt saavel for denne som for ***B***, ***C***, ***D***. Den var i alle Tilfælde = 1,3489. Forsøget udførtes ved almindelig Stuetemperatur.

A.

3. Marts. Sur Reaktion, stærk Reduktion af Fehling's Vædske, Brydningsindex = 1,3485, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjærceller med sygeligt Udseende, rige paa Vakuoler, stærkt lysbrydende, ingen fremmede Organismer.

---

[1]) I flere Tilfælde vil Refraktometeret kunne yde Bistand i Spørgsmaal om, hvorvidt en Ølsort er forfalsket eller ej, og om det virkelig er den Vare, hvorfor den sælges. Ved de Undersøgelser, som ere foretagne her paa Laboratoriet, har det nemlig vist sig, at der er Forskjel paa de forskjellige Ølsorters Brydningsevne, og at denne idetmindste i ugevis holder sig med kun ringe Svingninger indenfor bestemte Grændser. Som Exempler kan her anføres Brydningsindex for følgende Kjøbenhavnske Ølsorter:

Gammel Carlsberg's Lagerøl	(Febr.—April 1880) . . .	1,343—1,344.
Ny Carlsberg's Lagerøl	(do. do.) . . .	do. do.
Anker Bajer	(17. Marts—21. April 1880)	1,344—1,345.
Svanholm's Lagerøl	(do. do.)	1,344—1,3447
Aldersro's Lagerøl	(10. Marts—21. April 1880)	1,346—1,347.



B.

3 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,3489, ingen Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. I denne Kolbe anbragtes nogle Strimler Invertinpapir.

8 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring, sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,346, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjæren som i *A*.

C.

8 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,349, ingen Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Der blev sat nogle Strimler Invertinpapir til Vædsken i denne Kolbe.

12 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring, sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,3175, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjæren som i *A*.

Til yderligere Prøve paa, om Gjæren i *C* var ren og navnlig, om der ikke med Invertinpapiret skulde have indsneget sig fremmede Organismer, foretog jeg følgende Forsøg. Gjærbundfaldet i *C* blev, efterat Vædsken og Invertinpapiret var fjernet, heldt over i en anden Kolbe med destilleret Vand. Da Gjæren her var bleven godt udvasket og havde bundfældet sig, blev Vandet heldt fra og selve Gjæren, der nu var renset for Invertsukker og Alkohol, sat til steriliseret Urt og Rørsukker hver i sin Kolbe. Brydningsindex af Urten var 1,353 og af Rørsukkeropløsningen 1,348. 16 Marts viste Skumpletter paa Urtens Overflade, at den var i Gjæring. 20 Marts var Brydningsindex sunken ned til 1,351, og Vædsken gav tydelig Reaktion paa Alkohol. Gjæren bestod af sunde, normale Celler uden Indblanding af fremmede Organismer. 27 Marts var Rørsukkeropløsningen endnu uforandret; den reagerede neutral, reducerede ikke Fehling's Vædske og viste intet Spor af Alkoholgjæring. Gjæren forholdt sig som beskrevet under *A*. Heraf følger, at Gjæren i *C* ikke blot var levende, men ogsaa ren. Beretningen om denne Forsøgsrække kunde egentlig godt sluttes hermed, da det Øvrige væsentlig er en Gjentagelse. For Fuldstændigheds Skyld meddeles dog ogsaa Rækkens sidste Led.

D.

12 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,3491, ingen Pasteursk Draabereaktion men et ringe Jodoformbundfald, bestaaende af for det meste aldeles uregelmæssige Krystaller. Nogle Strimler Invertinpapir bleve anbragte i Vædsken.

18 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring.

27 Marts. Sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,3481, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. I Jodoformbund-

faldet fandtes nu næsten udelukkende typiske regelmæssige Krystaller. Gjærcellerne havde sygeligt Udseende, indeholdt store Vakuoler, og nogle vare monstrøse; fremmede Organismer iagttoges ikke.

At de i denne Forsøgsrække benyttede Gjærceller vare livskraftige og gjæringsdygtige, saas 3 Marts af *A* og ligeledes senere; at de ikke vare blandede med fremmede Organismer, viste især Experimenterne med *C*. Som Hovedresultat lære vi, at Sacch. apiculatus hverken formaar at invertere eller fremkalde Gjæring i en 10% Rørsukkeropløsning, men at den, saasnart Saccharosen ad anden Vej, f. Ex. ved Tilsætning af Invertin, er bleven omdannet til Invertsukker, da fremkalder Alkoholgjæring.

Som man maatte vente, reagerede de benyttede Sukkeropløsninger neutralt, ogsaa efter at de ved Invertinpapirets Indvirkning vare inverterede; først naar Alkoholgjæringen var indtraadt, fik man sur Reaktion. Destillatet havde da en fin aromatisk, lidt syrlig Frugtlugt, som jo ogsaa tildels fandtes i Øllet.

Ved at variere Forsøgene faas samme Resultat, f. Ex. ved at benytte Opløsninger, der indeholde over eller under 10% Saccharose. En længere Tids Indvirkning har ej heller Indflydelse i den Henseende. Prøver, som stode indtil to Maaneder, viste saaledes ingen Forandring. Det kunde imidlertid tænkes, at Sacch. apiculatus var mere fordringsfuld og ømfindtlig end andre Gjærsvampe, og at dens Celler paa Grund af de daarlige Livsforhold i Saccharoseopløsningerne komme i en Tilstand af Afkræftelse, i hvilken de ikke formaa at udsondre Invertinet. Idet denne Mulighed fremstillede sig for mig, udførte jeg et Par Forsøgsrækker, hvor jeg istedetfor rene Rørsukkeropløsninger benyttede saadanne blandede med Gjærvand. Dette udøvede dog ikke nogen Indflydelse; først da der blev sat Invertinpapir til, reducerede Blandingen Fehling's Vædske, og først da indtraadte Alkoholgjæringen. I Overensstemmelse hermed fandtes der ej heller Spor af Invertin i et vandigt Udtræk af Sacch. apiculatus.

Disse Forsøg ere et nyt Tegn paa, at Saccharosen ikke er direkte gjæringsdygtig. Da vi nu i Følge Buignet's Undersøgelser vide, at visse Frugter, f. Ex. Blommer, Jordbær og Hindbær, ikke blot indeholde Invert- men ogsaa Rørsukker, kunne vi altsaa slutte, at Sacch. apiculatus her kun formaar at angribe den førstnævnte Sukkerart og derimod maa lade den anden være urørt, hvis ikke Inversionen fremkaldes paa anden Maade, f. Ex. af Penicillium glaucum, Mucor racemosus eller andre Skimmelarter, Gjærsvampe og Bakterier.

de første Dage af August bragte derimod en Vegetation, der tydelig viste, at den da var tilstede i Mængde i Luften. Man maa nu ikke tro, at denne om Vinteren er blottet for Mikroorganismer. Nej, endog i den iskolde Frostluft findes de, og paa de hendøende, raadne og i Dvale værende Plantedele lever en Vrimmel, hvis Konidier navnlig kunne hvirvles op, men Sacch. apiculatus optræder regelmæssig ikke.

Undersøgelserne have altsaa vist os, at denne Gjærsvamp findes almindelig paa modne, søde, saftige Frugter, og at disse ere dens normale Opfostringssted. Efterhaanden som Frugternes Antal tager til, bliver Luften rundt om i Haven rigere paa den, idet talrige Generationer fostres og med Vinden føres omkring. At den paa denne Maade ogsaa tilfældigvis kan blive aflejret i Støvet paa umodne Frugter følger af sig selv og er iagttaget. Pasteur's Sætning om, at Gjærsvampene kun findes paa modne Druer, gjælder derfor ej ubetinget. Nu, da vi have fundet Hovedreglens Forklaring, indse vi ogsaa Grunden til Undtagelsen. Naar Sacch. apiculatus af Luftstrømninger føres hen paa umodne Druer eller andre umodne Frugter, kommer den paa et ugunstigt Sted, hvor den ikke kan formere sig, og hvor den vel hurtig gaar tilgrunde. Dette er Aarsagen til, at man kun undtagelsesvis finder den her. Det Samme gjælder ogsaa om det Støv, der aflejres paa Grene og tørre Frugter f. Ex. af Lind, Ahorn o. s. v. Den iagttages regelmæssigt først paa de tidligst modne søde, saftige Frugter og derefter paa de senere modne. I Carlsberg Have begynder den saaledes Sæsonen med Jordbærrene, Stikkelsbærrene og Kirsebærrene og slutter den med Blommerne og Vindruerne. Det er dog ikke hvert Aar, at de sidstnævnte modnes i vort Klima, og i Overensstemmelse hermed er den, som vi have hørt, heller ikke altid almindelig i Jorden under Vinrankerne. Som man maatte vente, er det først, naar Haven nogen Tid har haft modne Frugter af den ofte omtalte Art, at man kan finde en nogenlunde rigelig og almindelig Vegetation af vor Gjærsvamp. Derfor sker det ikke sjældent i den første Modningstid, at vore Kulturer f. Ex. med Hindbær, Jordbær og Kirsebær kun give negative Resultater, men det er interessant at se, hvorledes Sacch. apiculatus i de efterhaanden med faa Dages Mellemrum anstillede Dyrkningsforsøg bliver hyppigere og hyppigere, indtil det viser sig, at den findes paa næsten enhver moden, sød og saftig Frugt. Med Regnen og med de nedfaldne Frugter føres den ned i Jorden. Her overvintrer den, og næste Sommer begyndes det samme Kredsløb paany. Mine Undersøgelser over Luftens Mikroorganismer vise hen til, at den

af Blæsten i tørre Perioder kan hvirvles op med Jordens Støv. At Regnen kan piske den op paa lave Planter f. Ex. Jordbærbuske, har jeg direkte iagttaget. Insekter og andre Smaadyr kunne ligeledes spille en Rolle i den Retning.

Idet vi saaledes have faaet det stillede Spørgsmaal besvaret, rejser der sig som sædvanlig strax et andet, nemlig det: I hvilken Tilstand, i hvilken Skikkelse tilbringer Sacch. apiculatus den lange Tid i Jorden? De Forsøg, som i denne Retning bleve paabegyndte i 1879, mislykkedes. I Aar har Udfaldet været heldigere, saa at jeg allerede i Øjeblikket kan meddele, at Cellerne, efterat være blevne anbragte i almindelig Havejord for næsten to Maaneder siden, nu i Slutningen af December 1880, da denne Afhandling trykkes, ikke blot, som vi af det Foregaaende kunne vide, have bevaret deres Livskraft, men ogsaa deres sædvanlige Skikkelse. Vejrliget har i den nævnte Tid været meget vexlende: Frost, Sne, Regn, Blæst, stille Vejr, Solskin, tør og fugtig Luft. I flere Dage ad Gangen have de øverste Jordlag været frosne og bedækkede med Sne. Da de udsaaede Celler altsaa ikke efter saa lang Tids Forløb ere gaaede over i nye Former, er det ikke rimeligt, at saadant vil ske i Løbet af den øvrige Overvintringsperiode. En udførligere Beretning om disse nye Forsøg vil forøvrigt i sin Tid blive meddelt i dette Tidsskrift. Ogsaa i tørrede Gjærpræparater findes Cellerne efter Maaneders Forløb endnu i deres sædvanlige Skikkelse, men stærkt lysbrydende og uden Vakuoler. Se Bemærkningerne i det Følgende, p. 321.

Pasteur foretager i sin sidst omtalte Bog, p. 74, en Sammenligning imellem den Maade, hvorpaa Saccharomyces- og Mucorformerne optræde; disse to Slægter stilles i den Retning som Modsætninger til hinanden, idet der om den sidstnævnte siges, at den findes hele Aaret i Jorden, hvilket ikke skal være Tilfældet med den førstnævnte. Hvad Meddelelsen om Mucorformerne angaar, da kan jeg bekræfte Rigtigheden deraf, men maa tillige fremhæve, at Saadant ogsaa gjælder for en stor Skare andre Svampe, og at de om Vinteren ikke blot regelmæssig findes i Jorden, men ogsaa ovenover denne, i Luftens Støv, paa Frugter, Grene o. s. v. Pasteur's Sætning om Saccharomycesformernes Optræden er derimod, som den foregaaende Undersøgelse har vist, urigtig, idetmindste med Hensyn til den ovenfor omhandlede Art. Om de øvriges Kredsløb i den frie Natur vides endnu intet Sikkert. Brefeld's Anskuelse har ligesaa lidt som Pasteur's fundet Støtte i dette Arbejde.

Til Slutning kan jeg meddele, at der til denne Undersøgelse er udført over tusinde Analyser. Jeg har imidlertid med Forsæt

undladt at meddele en detailleret Fremstilling deraf, da en saadan kun vilde blive rig paa trættende Gjentagelser og uden Nytte bringe Afhandlingen til at svulme. Dette store Apparat har dog ikke været sat i Værk alene til Opklaring af de foreliggende Spørgsmaal, men har tillige havt til Hensigt at bringe Kundskab om forskjellige andre Mikroorganismers Færd og Optræden i den frie Natur, og en stor Del deraf danner en ligefrem Fortsættelse af de i dette Tidsskrifts 2. Hefte publicerede Undersøgelser fra 1878 over Luftens Mikroorganismer.

I Begyndelsen af denne Afhandling har jeg berørt, at det vistnok kun er een Gjærsvampeart, nemlig Sacch. cerevisiæ, der anvendes i Gjæringsstekniken. Det er imidlertid ikke paa Grund af en nøje Prøvelse, at netop denne Art hertil er bleven udvalgt, men det skyldes tvertimod en Tilfældighed. Efterhaanden som Gjæringsfysiologien har erobret sig større Omraade, er Spørgsmaalet ogsaa kommet frem, om det ikke kunde være hensigtsmæssigt at indfange en eller flere af de i den frie Natur levende vilde Gjærformer for i Industriens Tjeneste at tage dem i planmæssig Kultur. Muligvis kunde der ad den Vej opnaas Produkter, som ikke blot vare forskjellige, men tillige i visse Retninger bedre end dem, vi nu tilvirke ved Hjælp af Sacch. cerevisiæ. Førend denne Tanke kan virkeliggjøres, maa vi dog først vide nøjere Besked om Gjærsvampenes Optræden i den frie Natur og om deres morfologiske og fysiologiske Ejendommeligheder.

Det foregaaende Afsnit af denne Afhandling har for en af Arternes Vedkommende givet et Bidrag i den førstnævnte Retning; de følgende have til Hensigt at bringe Oplysning om de sidstnævnte Forhold.

Aarsagen til, at jeg valgte Sacch. apiculatus til mine Undersøgelser var, som allerede meddelt, fornemlig den, at denne udprægede Art med sin let kjendelige karakteristiske Form for første Gang tillod heltud at forfølge Spørgsmaalet om en Gjærsvamps Opfostrings- og Overvintringssted, om dens Kredsløb i den frie Natur. Denne Art yder imidlertid ogsaa et gunstigt Objekt til udviklingshistoriske og experimentelle fysiologiske Undersøgelser.

Som de øvrige Saccharomyces-Arter formerer den sig i en gjæringsdygtig Næringsvædske ved Knopskydning.

Reess meddeler herom i sit fortjenstfulde Skrift[1]), at denne kun foregaar fra Modercellens Poler, og at Knoppen, førend den aldeles løsnes, skydes til Side, saa at den kommer til at danne en ret Vinkel med Modercellen. De nydannede Celler betegnes som elliptiske, og først efterat være blevne frie faa de Citronformen. Hvorledes dette gaar til siges ikke. Mangecellede Kolonier opstaa aldrig. Engel[2]), som specielt har studeret denne Gjærart, er dog ikke kommen ud over, hvad Reess har givet. Der er i de omtalte

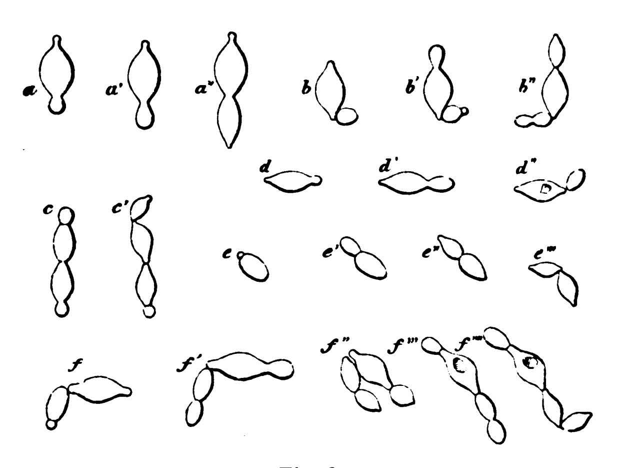


Fig. 2.

Celler af Sacch. apiculatus i Knopskydning: *a* en Celle, som Kl. $10^{1}/_{2}$ fra sin nedadvendte Ende har begyndt at udskyde en Knop, *a'* og *a''* vise dennes fortsatte Udvikling efter $1^{1}/_{2}$ og $3^{1}/_{4}$ Times Forløb; *b*—*b''* en lignende Udviklingsrække, men her har Knoppen udviklet sig fra Modercellens opadvendte Ende, medens der fra den modsatte Ende allerede ved Iagttagelsens Begyndelse, *b*, var afsnøret en tidligere dannet Knop, dennes fortsatte Udvikling i Løbet af 2 og 3 Timer ses i *b'* og *b''*, sidstnævnte Afbildning viser os Cellerne i en anden Stilling end de foregaaende; *c* er en Cellerække, *c'* samme $^{3}/_{4}$ Time senere, den nederste Knop havde ligesom de ovenfor værende Celler erholdt Artens typiske Form, men i Afbildningen ses den fra Enden saaledes, at dens Længdeaxe maa tænkes at danne en ret Vinkel med Papirets Plan; *d* Kl. $2^{1}/_{2}$, *d'* Kl. $3^{1}/_{4}$, *d''* Kl. $3^{3}/_{4}$; *e* en oval Celle med Knop Kl. $10^{3}/_{4}$, *e'* Kl. 12, *e''* Kl. $12^{3}/_{4}$, *e'''* Kl. 1; *f* Kl. $2^{1}/_{2}$, *f'* Kl. $3^{1}/_{4}$, *f''* Kl. 4, alle Cellerne have nu opnaaet Citronformen, *f'''* Kl. 5, den fortsatte Udvikling af de to Celler tilhøjre i *f''*, *f''''* Kl. $5^{1}/_{2}$. (Forstørrelsen c. 950 Gange, lineær.)

---

[1]) l. c. p. 27.
[2]) l. c. p. 53 o. flg.

Oplysninger Rigtigt og Galt sammenblandet, og af det Følgende vil det erfares, at de nævnte Forskeres Undersøgelser ikke have været tilstrækkeligt dybtgaaende til at udklare de tilstedeværende temlig indviklede Forhold.

I Fig. 2 har jeg fremstillet 6 Udviklingsrækker, idet de med samme Bogstav betegnede Afbildninger høre sammen. De stamme alle fra Kulturer i Ranvier's Kamre med klar Humleurt som Næringsvædske og Arbejdsværelsets Temperatur.

Allerede af Fig. 1 p. 295 kunne vi lære, at de afsnørede Knopper ikke altid ere ovale men ofte have Artens typiske Citronform, og Fig. 2 viser dette tydeligere. Her frembyde Udviklingsrækkerne *a—a''*, *b—b''*, *c—c'*, *e—e'''* og *f—f''''* Exempler derpaa. Udgangspunktet, *f*, i den sidstnævnte Række viser os tillige, at en citronformet Celle kan afsnøre en oval; dette ses ogsaa i *d—d''*. Alle de iagttagne Knopper udviklede sig fra Modercellernes Ender. I Rækkerne *e—e'''* og *f—f''''* gjøre vi den interessante Iagttagelse, at de ovale Celler først danne en Knop, førend de selv antage den typiske Citronform. Det vil navnlig ikke være overflødigt at dvæle ved *e—e'''*. Her have vi ved Kulturens Begyndelse i *e* en oval eller næsten ægformet Celle med en lille Knop, i *e'* er sidstnævnte ikke blot bleven større, men Modercellen har ogsaa begyndt at tilspidse sig lidt i den modsatte Ende; i *e''* se vi, at denne Tilspidsning er fortsat og tillige, at Knoppen er i Færd med at antage den typiske Citronform; dette er fuldstændig sket i *e'''* saavel for Knoppens som for Modercellens Vedkommende. I den nævnte Henseende kom, som *e''* viser, Dattercellen endog sin Modercelle i Forkjøbet. Undertiden maa den ovale Modercelle gjennemgaa to eller flere Knopskydninger (Fig. 3, *j—j'*), førend den opnaar Citronformen, og den kan, ligesom naar Modercellen har Artens typiske Skikkelse, baade udvikle ovale og citrondannede Døtreceller.

Medens Ernæringsvilkaarene ere gunstige og Knopskydningen i livlig Gang, dannes der hyppig Kjeder af 4 Celler, som en kort Tid forblive forbundne. Det ses da ikke sjældent, at den typiske Citronform hurtig gaar tabt, ofte umiddelbart efter at den er opnaaet. Et Exempel derpaa frembyder Fig. 3, *k—k'''*, hvor vi i *k* have en oval Celle med en lille Knop, i *k'* er Knoppen bleven lidt større, og Modercellen har tilspidset sig; dette er et af de første synlige Tilløb til at erholde Artens typiske Form; i *k''* have saavel Moder- som Dattercellen modtaget denne, men under den strax indtrædende nye Knopskydning, som begynder i de frie tilspidsede

Ender af de to Celler (k'''), førend de have skilt sig ad, vendes der atter tilbage til den ovale Form. Denne kan, som Fig. 2, c—c' viser, igjen blive afløst af den citronformede, og saadanne Svingninger frem og tilbage kunne i det Uendelige fortsættes af de efterhaanden nydannede Individer, dog ikke regelløst. Aarsagerne skulle vi drøfte i det Følgende.

Hos de Arter, som opstilles under Slægten Saccharomyces, er det temmelig almindelig at finde pølseformede, abnorme Celler ofte med barok Form. Dette er ogsaa undertiden Tilfældet med Sacch. apiculatus; Fig. 3, l—l''''' og m—m'''' forestille to Udviklingsrækker af saadanne Celler. Den førstnævnte (l—l''''') viser os en pølsedannet Modercelle, der efterhaanden fra begge sine Ender udvikler aldeles typiske Døtreceller, først fra den opadvendte, derpaa fra den nedadvendte Ende. Noget Lignende er Tilfældet med Rækken m—m'''', hvor Modercellens Form imidlertid nærmest kan lignes med en Hætte eller en Halvmaane. Det er kun ved nøjagtigt at studere disse Cellers Knopskydning, at vi kunne overbevise os om, at de virkelig høre til vor Art. Saavidt mine Iagttagelser gaa, maa jeg antage, at de ikke som de ovale Celler gjennem Knopskydning kunne erholde den typiske Citronform; deres hele Figur synes ogsaa ligesom at forbyde en saadan Omdannelse. De smaa i Rækkerne g—g'' og h—h'' afbildede Celler kunne egentlig ogsaa

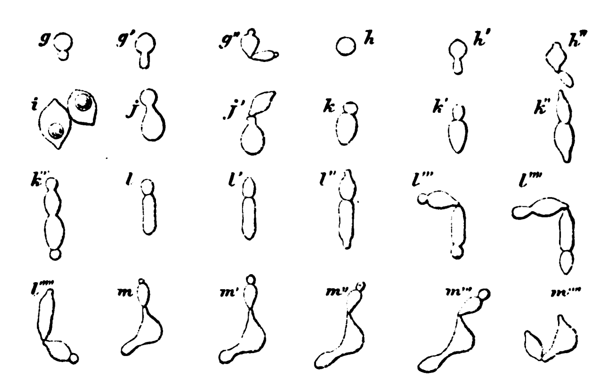


Fig. 3.

Celler af Sacch. apiculatus; de fleste i Knopskydning: g Kl. $3^{3}/_{4}$, g' Kl. $5^{1}/_{4}$, g'' Kl. $6^{1}/_{2}$; h Kl. $10^{1}/_{4}$, h' Kl. $1^{3}/_{4}$, h'' Kl. $2^{1}/_{2}$; i to typiske Celler, hver med sin stærkt lysbrydende Kugle; j Kl. $10^{1}/_{2}$, j' Kl. $1^{1}/_{4}$; k Kl. $10^{1}/_{2}$, k' Kl. $12^{1}/_{2}$, k'' Kl. $1^{1}/_{2}$, k''' Kl. $2^{1}/_{4}$; l Kl. 7, l' Kl. 8, l'' Kl. 8 og 5 Minutter, l''' Kl. $8^{1}/_{4}$, l'''' Kl. $9^{1}/_{2}$, l''''' Kl. 10; m Kl. $6^{1}/_{2}$, m' Kl. $6^{3}/_{4}$, m'' Kl. 7, m''' Kl. $7^{1}/_{4}$, m'''' Kl. $7^{3}/_{4}$. (Forstørrelsen c. 950 Gange, linear.)

paa Grund af deres Lidenhed henregnes til de abnorme. I begge ses det, at den lille, næsten kuglerunde Celle, der var Udgangspunktet, efterhaanden gjennem Knopskydningen naar Artens typiske, citronlignende Skikkelse. I *g—g''* afsnøres en pølseformet Celle. Fig. 3, *i*, viser det sjældne Forhold, at der i hver af de to fremstillede typiske Celler har udviklet sig en stærkt lysbrydende Kugle. Reess har bemærket det samme Fænomen. De i Fig. 3 aftegnede Udviklingsrækker stamme ligesom de foregaaende fra Kulturforsøg i Ranvier's Kammer ved Arbejdsværelsets Temperatur; Næringsvædsken var her dog i *g—g''* Æblesaft og i *h—h''* Blommesaft, forøvrigt klar Humleurt.

Lade vi de rent abnorme Knopper, hvilke ogsaa kun undtagelsesvis forekomme, ude af Betragtning, saa bliver Hovedresultatet af de foregaaende Undersøgelser dette: At der ikke, som Reess og Engel lære, afsnøres een Art Knopper, men regelmæssig to, og at der i de ovale Knoppers Udviklingsgang gjør sig den Lov gjældende, at de for at opnaa Artens typiske Skikkelse maa gjennemgaa en eller flere Knopskydninger.

For Kortheds Skyld har jeg betegnet alle de runde og mere eller mindre elliptiske Knopper som ovale.

Paa det Punkt i Undersøgelsen, hvortil jeg er naaet, maa naturligt det Spørgsmaal komme frem, hvornaar og under hvilke Betingelser hver af de to Arter Knopper udvikles. Af det Foregaaende fremgaar det, at Grunden ikke kan søges i Modercellens Form. Man ledes da hen paa at efterspore den i Ernæringsforholdene. Allerede ved i Tanken at sammenligne de Celler, der i Begyndelsen ere tilstede i Dyrkningsforsøgene i de fugtige Kamre, naar Knopskydningen har begyndt, med dem, der findes sammesteds efter f. Ex. et Døgns Forløb, faar man det Indtryk, at de ovale Cellers Antal er blevet forholdsvis stærkere forøget end de citronformedes, og har man særlig havt sin Opmærksomhed henvendt paa disse Forhold, vil man erfare, at de først udviklede Knopper næsten uden en eneste Undtagelse ere citrondannede. I Kulturens Begyndelse, medens Ernæringsvilkaarene fornemlig ere gunstige, dannes der følgelig forholdsvis flere citronformede end ovale Celler, hvorimod det Omvendte senere indtræder, naar en Del af Næringen er bleven forbrugt, og der er dannet Kulsyre, Alkohol o. s. v. i Stedet derfor. Dette Resultat beror imidlertid kun paa et Skjøn. Den exakte Undersøgelse kan foretages paa følgende Maade:

I et fugtigt Kammer med klar Humleurt som Næringsvædske anbringes nogle faa Celler af Sacch. apiculatus, f. Ex. 2—3. Efter

med Omhyggelighed at have undersøgt hele Præparatets Indhold tælles de tilstedeværende Celler, det noteres hvormange ovale og citronformede der findes, og med korte Mellemrum gjentages dette i Løbet af et Døgn. Navnlig i Forsøgets Begyndelse maa man være meget opmærksom og bør da især foretage hyppige Tællinger. I et saadant Forsøg, som begyndte Kl. 11 Form. med lige mange ovale og citrondannede, viste det sig, at de sidstnævnte Kl. 3 vare blevne de talrigste. De citronformede Cellers Antal blev derpaa endnu en Tid forholdsvis stærkere forøget, men Kl. 6 var Ligevægten atter vendt tilbage. I Løbet af Aftenen og Natten fik de ovale Celler bestandig mere Overvægt saaledes, at der næste Morgen fandtes dobbelt saa mange af dem som af de citronformede. Nogle af disse Celler bleve overførte i to andre Kamre, *A* og *B*, ligeledes med klar Humleurt som Næringsvædske. Kl. $10^3/_4$ fandtes i *A* 6 ovale og 1 citronformet Celle; omtrent Kl. 3 ligemange af begge Slags; Kl. $8^1/_2$ Aften dobbelt saa mange citronformede som ovale; næste Dags Formiddag ligemange af begge. Kl. $10^3/_4$ indeholdt *B* kun ovale Celler; Kl. $2^1/_2$ ligemange af begge Slags; Kl. $8^1/_2$ Aften dobbelt saa mange citronformede som ovale; næste Dags Formiddag flere ovale end citrondannede, Forholdet var nemlig som $^3/_2$. I Hovedtrækkene har altsaa den samme Udviklingscyklus gjentaget sig i ethvert af de omtalte Tilfælde. Det kan her bemærkes, at alle de fra Begyndelsen udsaaede ovale Celler naaede den typiske Form gjennem een Knopskydning. Ogsaa i andre lignende Kulturer, men hvor Næringsvædsken var Blomme-, Æble- eller Vindruesaft, viste det sig, naar Forsøgene havde varet et Døgn eller længere, at der da fandtes en overvejende Mængde af de ovale Celler. For yderligere Sikkerheds Skyld anstillede jeg tillige Prøven efter en anden Methode: I tre Pasteurske tohalsede Kolber, hver indeholdende 200 Kub.-Cent. klar steriliseret Humleurt, blev der anbragt Celler af en Renkultur af Sacch. apiculatus. I de to Kolber indeholdt Udsæden flere ovale end citronformede og i den tredie ligemange af hver Art. Omtrent 8 Timer senere var i alle Kolberne Overvægten paa de citronformede Cellers Side, og efter 4 Døgns Forløb fandtes atter det omvendte Forhold, nemlig et større Antal ovale end citronformede. Bestemmelserne bleve foretagne ved Hjælp af Hæmatimetret.

Herved er det følgelig bevist, at de citronformede Celler navnlig dannes i Knopskydningens Begyndelse og da faa Overvægten, hvorimod de senere tilbagetrænges af de ovale.

Et nyt Spørgsmaal bliver det, om det er den under den første Knopskydning og Gjæring i Næringsvædsken dannede Kulsyre og Vinaand, som betinger, at der senere afsnøres ovale Knopper i Stedet for citrondannede, eller om Aarsagen hertil maa søges i andre Forhold i den omændrede Tilstand af Næringsvædsken eller maaske hos Gjærcellerne selv. Til ogsaa at bringe Opklaring herover udkræves der imidlertid en hel Række nye Undersøgelser.

I systematiske Beskrivelser af Sacch. apiculatus fremhæves det gjerne, at Cellen i sin Midte indeholder en stor Vakuole; dette er dog ikke en konstant Karakter men en Dannelse, som optræder i en enkelt bestemt Tilstand i Cellens Liv, nemlig naar den befinder sig under visse mere eller mindre ugunstige Ernæringsvilkaar. Anbringe vi i et fugtigt Kammer med klar Humleurt som Næringsvædske nogle Celler, hos hvilke Vakuoledannelsen er stærkt fremtrædende, saa varer det i Almindelighed ikke mere end en Times Tid, førend de alle blive udfyldte med ensartet, matgraa Protoplasma, og Vakuolerne forsvinde. Samtidig hermed er Udviklingen af citronformede Knopper rask i Gang. Paa de senere Stadier optræde Vakuolerne atter, navnlig naar Afsnøringen af de ovale Celler en Tid har havt Overvægt, og lader man Præparatet henstaa et Par Dage, blive de tilsidst meget stærkt udviklede. Noget Lignende iagttog jeg ogsaa i Massekulturerne i de ofte omtalte Kolber, ligeledes i fugtige Kamre, naar Næringsvædsken var Blomme-, Æble- eller Vindruesaft. I de to førstnævnte af disse var Vakuoledannelsen især meget stærkt fremtrædende, i Æblesaften endog i den Grad, at flere af Cellerne syntes at være helt udtømte og kun at bestaa af Væg uden Indhold. Der fandt ogsaa i alle de tre sidstomtalte Vædsker en langsommere og ringere Formering Sted end i Ølurten. Celler, som ved Lufttørring bringes i en Dvaletilstand, miste aldeles Vakuolerne.

Den citerede Afhandling af Reess indeholder Afbildninger af forskjellige abnorme Former, hvoraf vi blandt andet se, at Knopskydningen undtagelsesvis kan finde Sted paa andre Punkter end netop i Modercellens tilspidsede Ender[1]). Om de pølsedannede Celler meddeles, at de ofte fremkomme i Gjæringens Slutning og i Kulturer paa Kartoffel- og Gulerodskiver. Undertiden men langtfra altid er det paa denne Maade ogsaa lykkedes for mig at fremkalde disse Dannelser, ligeledes ved at udsaa Cellerne i Vand. I Urt, som var gjort stærk sur dels med Vinsyre dels med Fosforsyre, fremkom de ikke, ejheller naar Forsøgene bleve anstillede med

[1]) l. c. Taf. III, Fig. 10.

almindelig Urt i Kolber, som bleve tilsmeltede, saa at den under Gjæringen avlede Kulsyre ikke kunde slippe ud. Vi vide, kort sagt, i Øjeblikket ikke nærmere Besked om disse vistnok for alle Saccharomyces-Arter almindelige abnorme Udviklinger.

Reess's Forsøg paa ved Dyrkning af Cellerne paa forskjellige Substrater at fremkalde dels en Myceliedannelse og dels en Udvikling af Askosporer eller andre Fruktifikationsorganer førte til et negativt Resultat. Det Samme gjælder ligeledes om alle de af mig i den Retning anstillede Forsøg. Engel mener imidlertid at have opdaget en ny Fruktifikationsform hos denne Art, hvorved den skulde faa en vis Lighed med Slægten Protomyces[1]). Han meddeler, at han har opnaaet dette ved Kulturer paa fugtige Gibsblokke, men efter at have fortsat sine Forsøg i 6 Maaneder maatte han afbryde dem, uden at de bleve helt gjennemførte. Desuagtet henfører han paa Grund af den omtalte protomycesagtige Fruktifikation, som han antager, at der findes hos vor Gjærsvamp, denne til en ny Slægt, som han kalder Carpozyma. Hans Opfattelse er ikke senere bleven bekræftet, og da jeg ved at gjentage og udvide hans Forsøg ikke er kommet til samme Resultat som han, saa kan jeg ikke indse Andet, end at det er rigtigst med Pasteur og Reess at beholde det gamle Navn.

Til fysiologiske Experimenter med Mikroorganismer kræves der først og fornemlig en Renkultur med en ikke for sparsom Vegetation af livskraftige Celler. En saadan kan erholdes af Sacch. apiculatus paa følgende Maade: I et større Antal af de ofte omtalte Kogeflasker med steriliseret Urt som Næringsvædske anbringes Frugter, hvorom man i Forvejen har Grund til at antage, at Sacch. apiculatus findes derpaa, dog kun een Frugt i hver Flaske, og det paases endvidere, at dens Overflade ikke er bevoxet med Skimmelsvampe eller er altfor uren, hvilket Øjet med lidt Øvelse hurtigt opdager. En eller flere af disse Flasker vil i Regelen efter faa Dages Forløb indeholde en yppig og nogenlunde ren Vegetation af den ønskede Gjærsvamp. Om der er nogle Bakterier tilstede har mindre at sige, thi dem vil man som oftest temmelig let faa Bugt med ved Kultur i sure Vædsker. Vanskeligere bliver Forholdet derimod, naar der sammen med Sacch. apiculatus optræder andre Gjær- eller Skimmelsvampe. I saadanne Tilfælde vil det være

[1]) l. c. p. 52.

rigtigst strax at opgive Forsøget og begynde forfra. Har man paa den beskrevne Maade erholdt en brugelig Kultur, saa benyttes denne til Infektion af steriliseret Urt med lidt Vinsyre i en Pasteursk tohalset Kolbe. Efter et Par Dages Forløb er Gjæringen i Gang, og den gamle Næringsvædske hældes nu fra Gjæren, der ligger paa Kolbens Bund, hvorpaa ny af samme Art sættes til, alt med tilbørlig Forsigtighed, saa at Organismer udenfra holdes borte. Ved at foretage dette nogle Gange kan man tilsidst opnaa en fuldstændig Renkultur. Det kan ogsaa være heldigt strax at blande Urten i Kogeflasken med Vinsyre.

De første Forsøg, som jeg foretog med Sacch. apiculatus, viste mig, at den i Ølurt giver Alkoholgjæring, og at den forholder sig som en Undergjærform. I disse Retninger kan jeg følgelig bekræfte de tidligere Iagttagelser af Reess, Engel og Pasteur. Dens Fermentvirksomhed er imidlertid temmelig svag, den dannede saaledes aldrig over 1 Vol. % Alkohol, medens Sacch. cerevisiæ under lignende Forhold naaede op til 6. Der tænkes her og i det Følgende bestandig paa Undergjærformen. Til disse Forsøg benyttede jeg klar steriliseret Humleurt (13—14% Ball.) i Pasteurske tohalsede Kolber og i Flasker overbundne med Filtrerpapir; de bleve anstillede ved Temperaturer fra 5—32° C. Ved at anvende en mindre extraktrig Urt (c. 9% Ball.) fik jeg væsentlig det samme Resultat. Øllet af Sacch. apiculatus havde i de Forsøg, som bleve anstillede ved Temperaturer under 25° C., en behagelig Smag og Lugt; sidstnævnte mindede om Frugt; Kulsyrespændingen var ringe.

Som Exempel paa mine Syrebestemmelser kan anføres, at jeg i et Gjæringsforsøg (20—27° C.) med to ligestore og ensartede Portioner Urt, hvortil der var sat omtrent det samme Antal Gjærceller til hver, men i det ene Tilfælde Sacch. apiculatus, i det andet derimod Sacch. cerevisiæ, fandt den samme Syremængde i begge, idet der krævedes 2,4 Kub.-Cent. normal Natronopløsning til at mætte Syren i 100 Kub.-Cent. Øl. I Øllet af Sacch. apiculatus var der imidlertid kun dannet 1 Vol. % Alkohol, hvorimod Øllet af Sacch. cerevisiæ indeholdt 4,75. I et andet Forsøg (4—7° C.), hvor Øllet af Sacch. apiculatus havde 0,625 Vol. % Alkohol, iagttoges derimod kun en Syremængde med en Mætningsgrad af 1,32 Kub.-Cent. normal Natronopløsning; i det tilsvarende Øl af Sacch. cerevisiæ blev Syremængden mættet med 1,28 Kub.-Cent. normal Natronopløsning, medens Alkoholmængden beløb sig til 4,25 Vol. %. Idet 1 Kub.-Cent. af den omtalte Natronvædske svarer til 0,09 Gr. Mælkesyre, haves for 2,4 Kub.-Cent. 0,216 Gr. og for 1,32 Kub.-Cent. 0,1188 Gr. Af dette ses altsaa, at der i

de paa lignende Maade anstillede Forsøgsrækker med Sacch. apiculatus og Sacch. cerevisiæ ved Hovedgjæringens Slutning dannedes i det Hele ligestore Syremængder (Kulsyren ikke medregnet, hvorimod der samtidig hermed i Øllet af sidstnævnte Gjærsvamp bestandig fandtes en betydelig større Mængde Alkohol end i Øllet af førstnævnte.

Under mine fortsatte Experimenter med denne Gjærart gjorde jeg den interessante Iagttagelse, at den i Modsætning til, hvad vi ellers vide om Saccharomycesformerne, ikke formaar at udsondre Invertin og derfor ej heller er istand til at forgjære Rørsukker[1]).

Dette kemiske, opløselige Ferment findes blandt andet i et vandigt Udtræk af Bryggerigjær og kan heraf udfældes med Alkohol. Ved at filtrere Vædsken fra det erholdte Bundfald faar man Invertinet tilbage paa Filteret, rigtignok blandet med Æggehvidestoffer, hvilket for vort specielle Formaal imidlertid ingen Betydning har. Jeg benyttede Filtrerpapir som Filter og lod Fermentet indtørre herpaa, idet jeg efter Filtreringens Slutning lagde Papiret sammen som to Blade i en Bog saaledes, at Fermentet blev optaget imellem dem. Saavidt jeg erindrer, er det den franske Kemiker, Berthelot, som først har angivet denne Fremgangsmaade. Af Erfaring kan jeg meddele, at dette Invertinpapir bevarer sin Fermentevne flere Maaneder ved almindelig Stuetemperatur. Det er en bekvem Maade, hvorpaa man bestandig kan have et Præparat af dette Ferment ved Haanden.

Førend jeg beskriver selve Forsøgene, maa jeg endnu forudskikke nogle Oplysninger om Alkoholreaktioner, om Bestemmelser ved Hjælp af Abbe's Refraktometer og om den anvendte Rørsukkeropløsning.

En af de fineste Reaktioner paa Vinaand er ubestrideligt Lieben's. Det er vistnok ogsaa den, der hyppigst anvendes af Kemikere og Fysiologer, naar det gjælder om i stærkt fortyndede Destillater at paavise Vinaand. Udebliver det krystallinske Jodoform-Bundfald, da er dette nemlig efter vor nuværende Viden et sikkert Tegn paa, at det søgte Stof ikke findes. Men vi kunne ikke omvendt slutte, at det er tilstede, naar Reaktionen indtræder,

---

[1]) Gayon har fornylig hos visse Skimmelsvampe paavist noget Lignende: Faits pour servir a l'histoire physiologique des moisissures (Mém. de la soc. des sciences phys. et naturelles de Bordeaux 1878 p. 249). Sur un procédé nouveau d'extraction du sucre des mélasses (Annales agronomiques 1880).



thi den er fælles for en stor Mængde forskjellige Forbindelser. Hertil høre ogsaa Rør-, Drue- og Mælkesukker. Ved Destillation af Vædsker, hvori disse Stoffer tillige med Gjærceller indeholdes, kunne endog ved svag Kogning de sidstnævnte og altsaa endnu lettere Sukkerpartikler rives med Dampene over i Forlaget, der optager Destillatet til Jodoformprøven. Har man derfor ikke anvendt en meget stor Forsigtighed ved Kogningen eller blot været lidt uheldig, saa kan man let paa denne Maade f. Ex. fra en ren Rørsukkeropløsning, hvori der i Virkeligheden ej findes Spor af Alkohol, dog faa Reaktion derpaa.

Som Kontrol benyttede jeg af denne Grund en anden fin Prøve, nemlig Pasteur's Draabereaktion. Den er kun lidet kjendt, og da den idetmindste i mange Tilfælde er at foretrække for den ovennævnte, vil en kort Beskrivelse deraf ikke være overflødig. Fremgangsmaaden bestaar deri, at man anbringer den Vædske, som skal undersøges, i en Retorte med en temmelig lang Hals og derpaa bringer den i Kog ved en ikke for stærk Varme. De første Draaber, som, naar Kogningen begynder, komme frem inde paa Halsens koldere Vægge, iagttages nøje. Dersom der er Alkohol tilstede, ville de vise sig som Taarer eller som olieagtige Draaber med lang Hale, en Form aldeles forskjellig fra den, de rene Vanddampe ved Afkjøling kunne antage. Dersom Vinaand maa antages at være tilstede i overordentlig ringe Mængde, er det rigtigst at sætte Retorten i Forbindelse med et Liebigsk Svaleapparat, og hvis Draabereaktionen ikke viser sig i det første Destillat, kan man ved Omdestillation søge det i det andet eller tredje. Denne Fremgangsmaade har for vort Formaal den store Fordel, at en ren Sukkeropløsning ikke herved giver Reaktion for Alkohol.

Som et Hjælpemiddel anvendte jeg endvidere Abbe's Refraktometer. Hermed blev Sukkeropløsningernes Brydningsevne bestemt, efter at Gjæren og Invertinpapiret, for saavidt samme blev anvendt, var sat til. I de Tilfælde, hvor der indtræder Alkoholgjæring, bliver Vædskens Brydningsindex mindre end den ved Forsøgets Begyndelse aflæste, udebliver derimod Gjæringen, faar man enten den samme eller, hvis en kjendelig Fordampning har fundet Sted, en større Index. Som Udgangspunkt indstilles Instrumentets Skala saaledes, at destilleret Vand viser en Brydningsindex af 1,333. Man kan dermed i de store Træk forfølge en Gjærings Gang og, naar man i Forvejen har udarbejdet en Tabel, foretage nogenlunde nøjagtige Bestemmelser dermed. Da der kun kræves en Draabe til Undersøgelsen, gjør Apparatet især god Nytte i Experimenter med smaa Vædskedele; ligeledes naar man uden at ville forstyrre

eller helt afbryde en Gjæring f. Ex. i en Pasteursk tohalset Kolbe, dog ønsker at vide, hvorvidt Gjæringen er skreden frem.[1])

Rørsukkeropløsningerne, som bleve anvendte i de følgende Forsøg, vare klare, steriliserede og indeholdt c. 10 % Saccharose. 200 Kub.-Cent. deraf var anbragt i hver af de benyttede Pasteurske tohalsede Kolber; disse rummede hver ½ Liter. Før Forsøgets Begyndelse blev alle Kolbers Indhold prøvet med Fehling's Vædske, for at jeg med Sikkerhed kunde vide, om der virkelig var en ikke inverteret Saccharose tilstede. Denne og de øvrige Manipulationer bleve udførte med Pasteursk Forsigtighed for at undgaa Infektion af fremmede Organismer.

Nedenfor meddeles en af de mest oplysende Forsøgsrækker iblandt dem, jeg med Hensyn til det ovenfor berørte Spørgsmaal har udført.

27. Febr. 1880 blev der til en Rørsukkeropløsning i 4 Kolber, *A*, *B*, *C*, *D*, sat Gjær fra en Renkultur med sunde, normale Celler af Sacch. apiculatus. Gjæren blev i Forvejen udvasket med destilleret Vand i en femte Kolbe for at fjerne Vinaanden og det direkte gjæringsdygtige Sukker, som var tilstede fra den tidligere Kultur. Efterat hver af de 4 førstnævnte Kolber havde modtaget sin omtrent ligestore Portion Gjær, blev der i *A* anbragt nogle Strimler Invertinpapir, og Brydningsindex bestemt saavel for denne som for *B*, *C*, *D*. Den var i alle Tilfælde = 1,3489. Forsøget udførtes ved almindelig Stuetemperatur.

A.

3. Marts. Sur Reaktion, stærk Reduktion af Fehling's Vædske, Brydningsindex = 1,3485, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjærceller med sygeligt Udseende, rige paa Vakuoler, stærkt lysbrydende, ingen fremmede Organismer.

---

[1]) I flere Tilfælde vil Refraktometeret kunne yde Bistand i Spørgsmaal om, hvorvidt en Ølsort er forfalsket eller ej, og om det virkelig er den Vare, hvorfor den sælges. Ved de Undersøgelser, som ere foretagne her paa Laboratoriet, har det nemlig vist sig, at der er Forskjel paa de forskjellige Ølsorters Brydningsevne, og at denne idetmindste i ugevis holder sig med kun ringe Svingninger indenfor bestemte Grændser. Som Exempler kan her anføres Brydningsindex for følgende Kjøbenhavnske Ølsorter:

Gammel Carlsberg's Lagerøl	(Febr.—April 1880) . . .	1,348—1,344.
Ny Carlsberg's Lagerøl	(do. do.) . . .	do. do.
Anker Bajer	(17. Marts—21. April 1880)	1,344—1,345.
Svanholm's Lagerøl	(do. do.)	1,344—1,3447
Aldersro's Lagerøl	(10. Marts—21. April 1880)	1,346—1,347.



B.

3 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,3489, ingen Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. I denne Kolbe anbragtes nogle Strimler Invertinpapir.

8 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring, sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,346, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjæren som i *A*.

C.

8 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,349, ingen Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Der blev sat nogle Strimler Invertinpapir til Vædsken i denne Kolbe.

12 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring, sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,3475, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. Gjæren som i *A*.

Til yderligere Prøve paa, om Gjæren i *C* var ren og navnlig, om der ikke med Invertinpapiret skulde have indsneget sig fremmede Organismer, foretog jeg følgende Forsøg. Gjærbundfaldet i *C* blev, efterat Vædsken og Invertinpapiret var fjernet, heldt over i en anden Kolbe med destilleret Vand. Da Gjæren her var bleven godt udvasket og havde bundfældet sig, blev Vandet heldt fra og selve Gjæren, der nu var renset for Invertsukker og Alkohol, sat til steriliseret Urt og Rørsukker hver i sin Kolbe. Brydningsindex af Urten var 1,353 og af Rørsukkeropløsningen 1,348. 16 Marts viste Skumpletter paa Urtens Overflade, at den var i Gjæring. 20 Marts var Brydningsindex sunken ned til 1,351, og Vædsken gav tydelig Reaktion paa Alkohol. Gjæren bestod af sunde, normale Celler uden Indblanding af fremmede Organismer. 27 Marts var Rørsukkeropløsningen endnu uforandret; den reagerede neutral, reducerede ikke Fehling's Vædske og viste intet Spor af Alkoholgjæring. Gjæren forholdt sig som beskrevet under *A*. Heraf følger, at Gjæren i *C* ikke blot var levende, men ogsaa ren. Beretningen om denne Forsøgsrække kunde egentlig godt sluttes hermed, da det Øvrige væsentlig er en Gjentagelse. For Fuldstændigheds Skyld meddeles dog ogsaa Rækkens sidste Led.

D.

12 Marts. Neutral, ingen Reduktion, Brydningsindex = 1,3491, ingen Pasteursk Draabereaktion men et ringe Jodoformbundfald, bestaaende af for det meste aldeles uregelmæssige Krystaller. Nogle Strimler Invertinpapir bleve anbragte i Vædsken.

18 Marts. Luftblærer, ydre Tegn paa Gjæring.

27 Marts. Sur, stærk Reduktion, Brydningsindex = 1,3481, tydelig Pasteursk Draabe- og Jodoformreaktion. I Jodoformbund-

faldet fandtes nu næsten udelukkende typiske regelmæssige Krystaller. Gjærcellerne havde sygeligt Udseende, indeholdt store Vakuoler, og nogle vare monstrøse; fremmede Organismer iagttoges ikke.

At de i denne Forsøgsrække benyttede Gjærceller vare livskraftige og gjæringsdygtige, saas 3 Marts af *A* og ligeledes senere; at de ikke vare blandede med fremmede Organismer, viste især Experimenterne med *C*. Som Hovedresultat lære vi, at Sacch. apiculatus hverken formaar at invertere eller fremkalde Gjæring i en 10 % Rørsukkeropløsning, men at den, saasnart Saccharosen ad anden Vej, f. Ex. ved Tilsætning af Invertin, er bleven omdannet til Invertsukker, da fremkalder Alkoholgjæring.

Som man maatte vente, reagerede de benyttede Sukkeropløsninger neutralt, ogsaa efter at de ved Invertinpapirets Indvirkning vare inverterede; først naar Alkoholgjæringen var indtraadt, fik man sur Reaktion. Destillatet havde da en fin aromatisk, lidt syrlig Frugtlugt, som jo ogsaa tildels fandtes i Øllet.

Ved at variere Forsøgene faas samme Resultat, f. Ex. ved at benytte Opløsninger, der indeholde over eller under 10 % Saccharose. En længere Tids Indvirkning har ej heller Indflydelse i den Henseende. Prøver, som stode indtil to Maaneder, viste saaledes ingen Forandring. Det kunde imidlertid tænkes, at Sacch. apiculatus var mere fordringsfuld og ømfindtlig end andre Gjærsvampe, og at dens Celler paa Grund af de daarlige Livsforhold i Saccharoseopløsningerne komme i en Tilstand af Afkræftelse, i hvilken de ikke formaa at udsondre Invertinet. Idet denne Mulighed fremstillede sig for mig, udførte jeg et Par Forsøgsrækker, hvor jeg istedetfor rene Rørsukkeropløsninger benyttede saadanne blandede med Gjærvand. Dette udøvede dog ikke nogen Indflydelse; først da der blev sat Invertinpapir til, reducerede Blandingen Fehling's Vædske, og først da indtraadte Alkoholgjæringen. I Overensstemmelse hermed fandtes der ej heller Spor af Invertin i et vandigt Udtræk af Sacch. apiculatus.

Disse Forsøg ere et nyt Tegn paa, at Saccharosen ikke er direkte gjæringsdygtig. Da vi nu i Følge Buignet's Undersøgelser vide, at visse Frugter, f. Ex. Blommer, Jordbær og Hindbær, ikke blot indeholde Invert- men ogsaa Rørsukker, kunne vi altsaa slutte, at Sacch. apiculatus her kun formaar at angribe den førstnævnte Sukkerart og derimod maa lade den anden være urørt, hvis ikke Inversionen fremkaldes paa anden Maade, f. Ex. af Penicillium glaucum, Mucor racemosus eller andre Skimmelarter, Gjærsvampe og Bakterier.

Den første Vanskelighed, som man ved saadanne Undersøgelser maa overvinde, bestaar i at opnaa en Renkultur, men derefter indtræder den anden, nemlig den, virkelig at bevare Renkulturen under de Arbejder, som Experimenterne kræve. Det Øvrige gaar lettere. Et ypperligt Hjælpemiddel er den ofte omtalte Pasteurske tohalsede Kolbe. Skjøndt Sacch. apiculatus, som ovenfor berørt, vistnok ikke hører til de Former, hvis Behandling frembyder særlig Vanskelighed, har jeg dog til Tider haft Adskilligt at kæmpe med og har ikke altid kunnet undgaa Forstyrrelser i mine Kulturforsøg, idet fremmede Organismer snege sig ind. Der findes nemlig rundt om den Experimenterende en Skare af Bakterier, Skimmel- og Gjærsvampe, som formaa at invertere Saccharose; hertil hører f. Ex. den meget udbredte og meget paatrængende Penicillium glaucum. Angaaende Bakterierne have mine Undersøgelser lært, at der gives nogle Arter, som besidde den nævnte Egenskab, og andre, som mangle den. Man er altsaa meget udsat for ved fremmede Mikroorganismers Indtrængen at blive skuffet. Saadant har maaske været Aarsag til Reess's Fejltagelse, naar han siger, at Sacch. apiculatus i fysiologisk Henseende forholder sig væsentlig som Sacch. cerevisiæ og Sacch. ellipsoideus [1]).

Det Skumdække, der under Gjæringen dannes af Sacch. apiculatus, er noget forskjellig fra det tilsvarende af Sacch. cerevisiæ. Det er nemlig ikke blot meget mindre udviklet, men bestaar ogsaa gjennemgaaende af mindre Blærer, selv om der fra Begyndelsen har været mange flere Celler tilstede af Sacch. apiculatus end af Sacch. cerevisiæ, og de ydre Vilkaar, Næringsvædske, Temperatur o. s. v. ere lige for begge. Paa Gjæringens første Stadier viser der sig dog ingen kjendelig Differens, thi hvad enten Gjæren indeholder den ene eller den anden af de to Arter, bestaa de tidligst fremtrædende Skumpletter af smaa Blærer. Snart træder Forskjellen imidlertid frem, og har der i Kulturen af Sacch. apiculatus indsneget sig endog kun nogle faa Celler af den stærkere Konkurrent, saa røbes dette strax i Skumlaget. Aarsagen hertil maa naturligt søges i den rigeligere Kulsyreudvikling, som fremkaldes af Sacch. cerevisiæ. Efterhaanden som de talløse Blærer mødes paa Vædskens Overflade, smelte flere sammen, og herved kommer det hele Lag til at bestaa af større Blærer.

Af den foregaaende Undersøgelse have vi erfaret, at Sacch. apiculatus overvintrer i Jorden. Den er her i en Periode af 7 eller flere Maaneder udsat for meget omskiftende Temperatur-

---

[1]) l. c. p. 26.

og Fugtighedsforhold og maa følgelig være i høj Grad sejglivet. Dette fremgaar ogsaa af en anden Iagttagelse, jeg havde Lejlighed til at gjøre. Den 25 Septbr. 1879 hensatte jeg i mit Arbejdsværelse noget Jord, som var taget under Blommetræerne i Haven, og hvori Sacch. apiculatus fandtes i temmelig Mængde; det var anbragt i to smaa Glas, *A* og *B*, hvert dækket med sin Glasklokke. Efter kort Tids Forløb vare disse Jordprøver udtørrede. Den 7 Januar næste Aar anstillede jeg Kulturforsøg med dem og fandt, at Gjærsvampen var levende i begge. Resten af Jorden blev staaende indtil 21 Maj, da den anbragtes i nogle Kogeflasker med steriliseret Urt. Af begge Prøver, *A* og *B*, udviklede der sig her en livlig Vegetation af Sacch. apiculatus, og et stort Antal af Cellerne vare, da den mikroskopiske Undersøgelse fandt Sted, i Knopskydning. Den lille Gjærsvamp har altsaa holdt sig levende i den udtørrede Jord under Værelsets skiftende Temperaturer fra Septbr. til Maj, det vil sige i 8 Maaneder. Denne Sejglivethed leder Tanken hen paa, at den vistnok vil kunne yde en holdbar Pressegjær til lange Forsendelser. Dens svage Gjæringsevne bevirker imidlertid, at den ikke kan tjene til alle de Formaal, hvortil Sacch. cerevisiæ anvendes.

Om ogsaa andre Gjærarter kunne overvintre i Jorden vides endnu ikke; de i denne Retning begyndte Forsøg ville først i Sommeren 1881 kunne give Oplysning derom. Exempler paa Sejglivethed hos Sacch. cerevisiæ mangle imidlertid ikke. Saaledes har E. Schumacher vist, at Cellerne i Pressegjær ikke bleve dræbte, om de endog udsattes for en Temperatur af c. ÷ 114° C., og Lintner meddeler, at indefrossen Gjær holdt sig levende i flere Maaneder. Af Wiesner's Undersøgelser fra 1869 vide vi, at lufttørret Gjær kan bevare sin Livskraft i 8 Maaneder; endnu tidligere er Hoffmann kommen til et lignende Resultat. I 1876 gav Pasteur en Bekræftelse herpaa, idet han viste, at Gjærceller blandede med Gibspulver og tørrede ved almindelig Temperatur endnu efter over 7 Maaneders Forløb vare livskraftige. Det sidste Forsøg er med samme Hovedresultat blevet gjentaget af Lintner og her paa Laboratoriet af Kapt. Jacobsen. Jeg kan endvidere tilføje, at jeg selv for 4 Maaneder siden tilberedte nogle Præparater af lufttørret Gjær paa en lidt ejendommelig Maade, som jeg ved en anden Lejlighed skal omtale, og at Gjærcellerne heri (dels Sacch. cerevisiæ, dels Sacch. apiculatus) endnu have bevaret deres sædvanlige Udseende med Undtagelse af, at de ere stærkt lysbrydende og aldeles mangle Vakuoler. Da de bleve anbragte i Urt, fremkaldte de livlig Gjæring og formerede sig. Disse Forhold have vel nogen Lighed med den

Tilstand, hvori Gjærcellerne komme, naar de af Regnen føres ned i Jorden; men ved nøjere Eftertanke finde vi dog snart, at der er Forskjel tilstede. Hvis vi f. Ex. udsatte vore Gjærpræparater for alle de omskiftende Indvirkninger, som Gjærcellerne i Jorden ude i den frie Natur i Løbet af Efteraaret, Vinteren og Foraaret ere underkastede, saa er det ikke sikkert, at deres Celler vilde holde sig levende. Vi kunne overhovedet ikke drage nogen bestemt Slutning af de foreliggende Tilfælde og maa derfor afvente de nye Forsøgs Udfald. Om en af de vilde Gjærformer, som jeg udsaaede i Jord, kan jeg her dog allerede meddele, at den i nogle Tilfælde hurtigt dannede Askosporer.

De p. 302 omtalte Iagttagelser synes at vise, at Sacch. apiculatus kun vanskelig bevarer sin Livskraft i en Sandbund; dette har faaet en Art Bekræftelse i følgende Forsøg. I Februar 1880 blev en yppig Vegetation af den omtalte Gjærsvamp heldt ud i Sand, som fandtes i et Glas af samme Art som de foran omtalte med Jord; det var ogsaa ligesom disse dækket med en Glasklokke og stod ved Siden af dem. Da jeg i Juni foretog en Undersøgelse, viste det sig, at Cellerne vel vare tilstede og havde bevaret deres sædvanlige Citronform, men at deres Indhold var blevet stærkt lysbrydende. De frembøde alle Tegn paa Død, og hverken i fugtige Kamre eller i Massekulturer med Urt som Næringsvædske formerede de sig.

I en 10 % Opløsning af Dextrose fremkalder Sacch. apiculatus tydelig Alkoholgjæring; om dette ogsaa er Tilfældet med Maltose, har jeg ikke med Sikkerhed kunnet afgjøre. De fleste Kemikere i den nyere Tid hylde vel den Anskuelse, at denne Sukkerart er direkte gjæringsdygtig uden forudgaaende Inversion, men man finder dog ogsaa den modsatte Opfattelse udtalt, at den før Gjæringen maa omdannes til Druesukker. Flere Grunde kunne tale herfor, saaledes ogsaa den, at Saccharose og Maltose høre til een Gruppe, hvis Formel er $C_{12} H_{22} O_{11}$. Der turde saaledes være nogen Anledning til ogsaa ad fysiologisk Vej at søge yderligere Oplysning om dette Spørgsmaal. Den Egenskab hos Sacch. apiculatus, at den ikke formaar at afsondre Invertin, synes at maatte gjøre denne Art særlig skikket til Forsøg i den Retning. Det viste sig imidlertid snart, at den paa Grund af sin ringe Gjæringskraft ikke egner sig til at bringe et bestemt Resultat frem. Førend den anvendes, maa den udvadskes for at befries for de smaa Kvantiteter af Alkohol og direkte gjæringsdygtigt Sukker, som kunde være tilstede imellem Cellerne; men herved bliver dens Gjæringsevne endnu ringere end tidligere. Ligeledes maa det erindres, at Maltosen kun

med Vanskelighed forgjæres endog af en saa kraftig Fermentorganisme som Sacch. cerevisiæ. I mine Forsøg erholdt jeg derfor kun yderst lidet eller slet ingen Vinaand, og da det er vanskeligt med fuldstændig Sikkerhed at afgjøre, om der ikke i Maltosepræparatet fra Begyndelsen er et Spor af Dextrose tilstede, kan der selvfølgelig ingen sikre Slutninger drages deraf. Større Udsigt til at løse Spørgsmaalet ad fysiologisk Vej vil man have ved at experimentere med en Form, der ikke blot ligesom den nævnte mangler Evne til at danne Invertin, men som tillige er en kraftig Alkoholgjærsvamp. Selv med Sacch. cerevisiæ vil Forsøget maaske kunne gjennemføres, naar man behandler den saaledes, at dens opløselige Ferment gjøres uvirksomt, uden at dens Evne til at fremkalde Alkoholgjæring derved væsentlig indskrænkes.

Gjennem de foregaaende Experimenter have vi erholdt nogen Oplysning om, hvorledes Sacch. apiculatus forholder sig, naar den er ene tilstede i en eller anden gjæringsdygtig Vædske; vi skulle nu gaa over til at betragte den, naar den befinder sig under Trykket af Konkurrencen med en stærkere Rival.

I. Forsøgsrække.

I hver af 3 Pasteurske tohalsede Kolber, *A*, *B*, *C*, blev der anbragt 200 Kub.-Cent. steriliseret, klar Humleurt (Extrakt c. 15 % Ball.). Til *A* og *B* blev derpaa sat ligestore Maal af den samme Urt, hvori der var udrørt Undergjær af Sacch. cerevisiæ; til *B* og *C* sattes lignende Maal af samme Urt, men hvori der var blandet Gjær af Sacch. apiculatus. Der blev sørget for, at Cellerne i disse Blandinger vare jevnt fordelte, saa at hvert af de to Maal med samme Gjærart maatte komme til at indeholde idetmindste omtrent samme Antal. Ved nogen Erfaring og Øvelse er dette ikke saa vanskeligt, som det ser ud til. Gjæren i *A* bestod saaledes udelukkende af Sacch. cerevisiæ, i *B* af denne Gjærart blandet med Sacch. apiculatus og i *C* udelukkende af sidstnævnte. Den benyttede Gjær var i alle Tilfælde sund, ren og normal, og der blev under Experimenterne vaaget over, at ikke fremmede Organismer snege sig ind. Alle Kolberne bleve saavidt muligt behandlede ens, saa at Differenserne imellem dem kun kom til at bestaa i det forskjellige Indhold af Gjær. Ved Forsøgets Begyndelse fandtes saavel i *A* som i *B* i den valgte Rumenhed 33 Celler af Sacch. cerevisiæ, i samme Rumenhed i *B* desuden 62 Celler af Sacch. apiculatus og i *C* 64 Celler af sidstnævnte Gjærart. Efter 13 Døgns Henstand i Thermostaten ved 8—10° C. iagttoges i Rumenheden

i *A* 300 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 9),

i *B* 250 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 7,5) og 260 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 4,2),

i *C* 670 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 10,4).

Alkoholmængden i *A* var 6 Vol. %.
i *B* - $5^7/_8$ —
i *C* - $^7/_8$ —

II. Forsøgsrække.

Anstillet paa samme Maade som foregaaende; der fandtes her dog i Rumenheden i *A* og *B* 29 Celler af Sacch. cerevisiæ, i samme Rumenhed i *B* desuden 64 Celler af Sacch. apiculatus og i *C* ligeledes 64 Celler af den sidste Art. Efter 9 Døgns Henstand i Thermostaten ved 11—13° C. iagttoges i Rumenheden

i *A* 364 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 12,5),

i *B* 243 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 8,3) og 294 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 4,5),

i *C* 1050 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 16,2).

Alkoholmængden i *A* var $6^1/_8$ Vol. %.
i *B* - $5^3/_4$ —
i *C* - $^7/_8$ —

Tallene vise, at de to Konkurrenter gjensidig have indvirket paa hinanden, begge skade hinanden, men Sacch. cerevisiæ faaer Magten og tilbagetrænger Sacch. apiculatus. Det samme Hovedresultat gave andre Forsøg, der væsentlig paa samme Maade bleve anstillede ved 23—24 og ved 27° C. Her traadte imidlertid Differenserne mellem *A* og *B* stærkere frem. Det Interessante ved disse Experimenter er, at de tydeligt vise, at den svagere Rival virkelig har udøvet en hæmmende Indflydelse paa den stærkeres Formering; derimod lære de os ikke, hvorledes det gaar med de enkelte Cellers Gjærvirksomhed.

Ere i Kolberne *A*, *B* og *C* Næringsvædsken, Temperaturen, Adgangen til atmosfærisk Luft og kort sagt alle Faktorer med Undtagelse af Cellernes Antal ens, saa vil en Forandring af dette ene være istand til at ændre Resultatet noget, og dette gjælder ogsaa om Forholdstallet imellem det tilstedeværende Antal Celler af Sacch. cerevisiæ og af Sacch. apiculatus. For at sidstnævnte skal kunne opnaa en kjendelig Indvirkning paa den førstnævnte, maa den være tilstede i en ikke for ringe Mængde. De efterfølgende to Forsøgsrækker, der bleve udførte som de foregaaende, vise saaledes, at Sacch. apiculatus ikke formaar at udøve noget egentlig Tryk paa sin stærkere Konkurrent, naar der i Kolben, *B*, ved Forsøgets Begyndelse blev anbragt omtrent lige mange Celler af hver af de to Gjærarter.

I. Forsøgsrække.

Ved Forsøgets Begyndelse fandtes saavel i *A* som i *B* i Rumenheden 19 Celler af Sacch. cerevisiæ; i samme Rumenhed i *B* desuden 22 Celler af Sacch. apiculatus og i *C* ligeledes 22 Celler af sidstnævnte Gjærart. Efter 9 Døgns Henstand i Thermostaten ved 11—14° C. iagttoges i Rumenheden

i *A* 333 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 17,5),
i *B* 312 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 16,4) og 130 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 5,9),
i *C* 1128 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 51,3).

Alkoholmængden i *A* var $5\frac{1}{2}$ Vol. %.
i *B* - $5\frac{1}{2}$ —
i *C* - $\frac{5}{8}$ —

II. Forsøgsrække.

Ved Forsøgets Begyndelse i Rumenheden i *A* og *B* 22 Celler af Sacch. cerevisiæ (i *B* maaske dog 24), i *B* desuden 19 Celler af Sacch. apiculatus og i *C* 20 Celler af den sidste Art. Efter 13 Døgns Henstand i Thermostaten ved 8—10° C. iagttoges i Rumenheden

i *A* 242 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 11),
i *B* 240 Celler af Sacch. cerevisiæ (Forfoldigelse 10 eller 10,9) og 45 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 2,3),
i *C* 791 Celler af Sacch. apiculatus (Forfoldigelse 39,5).

Alkoholmængden i *A* var 6 Vol. %.
i *B* - 6 —
i *C* - $\frac{1}{2}$ —

Som sædvanlig har Sacch. cerevisiæ indskrænket Formeringen af Sacch. apiculatus, og denne har i Kolberne *C*, hvor den var ene, formeret sig stærkere end Sacch. cerevisiæ i Kolberne *A* under tilsvarende Forhold. Disse Resultater ere ogsaa blevne bekræftede i en Række Experimenter, som jeg med andre Formaal anstillede, men hvortil lignende Kolber med lignende Næringsvædske benyttedes; Temperaturerne her vare 8—31° C.

Gjæren var ved Slutningen af alle de omtalte Forsøgsrækker fri for fremmede Organismer, og Cellerne af Sacch. cerevisiæ saa i alle Tilfælde ud til at være sunde og normale; det Samme gjaldt ligeledes om Cellerne af Sacch. apiculatus i *C*; i *B*, hvor de havde befundet sig i Selskab med Sacch. cerevisiæ, vare de derimod hyppigt stærkt lysbrydende med sygeligt Udseende, hvilket rimeligvis hidrører derfra, at de her have tilbragt en Tid i en Vædske, hvis

Alkoholmængde betydelig oversteg 1 Vol. %. Det er ogsaa kun i Gjæringens første Begyndelse, at de med nogen Kraft tage Del i Konkurrencen. Den avlede Gjær af Sacch. apiculatus var altid mørkere end af Sacch. cerevisiæ. Angaaende sidstnævnte kan den Oplysning maaske have lidt Interesse, at den i Forsøgene benyttede Gjær vel bestandig var Undergjærformen, men ikke udelukkende fra samme Bryggeri. I de fleste Tilfælde stammede den fra Carlsberg; i enkelte Tilfælde derimod fra Tucher's Bryggeri i Nürnberg. Gjæren herfra adskilte sig i flere Retninger fra Carlsberg's, f. Ex. ved sin højere Vægtfylde og derved, at dens Celler gjennemgaaende vare mere langstrakte og elliptiske; i Gjæringskjælderen, hvor den blev prøvet, gjærede den lidt langsommere og gav Øllet en anden Smag end Carlsberg's gamle Stamgjær. Overfor Sacch. apiculatus forholdt de sig desuagtet i Hovedtrækkene begge ens.

Naar Sacch. apiculatus om Sommeren med Vinden føres omkring, vil den ogsaa kunne komme ind i Bryggerierne i Urten paa Svalebakkerne og i Siposeurten, medens denne filtreres. Med disse Vædsker kan den altsaa ligeledes naa ned i Gjæringskarrene og her i Følge Ovenstaaende en kort Tid tage Del i Hovedgjæringen og til en vis Grad hæmme Bryggerigjæren. Snart tilbagetrænges den imidlertid, og naar den med Øllet føres ned i Lagerfadene, vil den her i den alkoholrige Vædske ligge uvirksom hen i en dvalelignende Tilstand, hvis den ikke gaar tilgrunde. At idetmindste nogle af dens Celler kunne holde sig levende i to Maaneder i undergjæret Lagerøl ved Lagerkjælderens Temperatur, ogsaa naar den i Forening med Sacch. cerevisiæ har taget Del i Hovedgjæringen, overbeviste jeg mig om ved direkte Forsøg.

Kaste vi til Slutningen et Blik tilbage paa de foregaaende Undersøgelser, saa finde vi, at de vigtigste Resultater deri ere følgende:

1. Sacch. apiculatus er en Alkoholgjærsvamp, som udmærker sig ved sin meget karakteristiske Form. Paa Grund heraf blev det muligt at forfølge den gjennem alle Aarets Tider i den frie Natur.
2. Modne, søde, saftige Frugter (f. Ex. Stikkelsbær, Kirsebær, Blommer o. s. v.) ere dens egentlige Opholds- og Opfostringssteder. Her formerer den sig, og herfra udbredes den med Vinden. Kun undtagelsesvis optræder den andre Steder eller paa de nævnte Frugter i deres umodne Tilstand. Aarets tidligst modne Frugter af den omtalte Art fostre de første Generationer, de senere modne Frugter de sidste.

3. Med Regnen og med de nedfaldne Frugter føres den ned i Jorden, hvor den overvintrer for næste Sommer at begynde det samme Kredsløb igen.
4. Denne Gjærsvamp afsnører regelmæssig to Slags Knopper, nemlig de typiske citronformede og de mere eller mindre ovale; hine dannes navnlig i Knopskydningens Begyndelse og faa da Overvægten, disse derimod senere, hvorpaa de ere de hyppigste. I de ovale Cellers Udviklingsgang gjør den Lov sig gjældende, at de for at opnaa Artens typiske Skikkelse maa gjennemgaa en eller flere Knopskydninger; ofte kommer endog Dattercellen sin Modercelle i Forkjøbet dermed.
5. Sacch. apiculatus er en Undergjærform med temmelig svag Gjæringsevne. Under Forhold, hvor Sacch. cerevisiæ giver indtil 6 Vol. % Alkohol, naar den ikke over 1. Det Øl, som frembringes af den, har en ejendommelig Lugt og Smag.
6. I Modsætning til, hvad vi ellers vide om Saccharomyces-Arterne, udmærker denne sig derved, at den ikke frembringer Invertin og derfor hverken kan invertere Saccharose eller fremkalde Alkoholgjæring i en Opløsning deraf.
7. Sacch. apiculatus er i høj Grad sejglivet og taaler ikke blot flere Maaneders Udtørring, naar den ligger i Jord, men er da tillige lidet ømfindtlig overfor Forandringer i Temperatur- og Fugtighedsforhold.
8. I Konkurrencen med Sacch. cerevisiæ bliver den vel som den svagere trængt tilbage, men kan dog ogsaa paa sin Side udøve en hæmmende Indflydelse paa sin stærkere Rivals Formering. I de paa samme Maade med Ølurt som Næringsvædske og ved 8—31° C. anstillede Forsøg, hvor hver af de to Gjærarter fandtes for sig i sin Kolbe, formerede Sacch. apiculatus sig stærkere end Sacch. cerevisiæ.
9. P. 316—17 er der lejlighedsvis blevet gjort opmærksom paa Anvendelsen af Abbe's Refraktometer til gjæringsfysiologiske Undersøgelser og ligeledes givet en Prøve paa dets Benyttelse som et Hjælpemiddel til at paavise Forfalskninger i gjærende Drikke.

Et fugtigt Kammer til Dyrkning af Mikroorganismer.

Af

Emil Chr. Hansen.

I den foregaaende Afhandling har jeg meddelt, hvorledes man i de Pasteurske tohalsede Kolber formaar at erholde en Renkultur, bestaaende af en rigelig Vegetation af livskraftige Celler. Talen var i dette Tilfælde om en Saccharomyces-Art, men med smaa Tillempninger kan den samme Fremgangsmaade ogsaa benyttes til Dyrkning af andre Mikroorganismer. Man er naturligvis ejheller bunden til den nævnte Kolbe og kan undertiden med Fordel benytte Modifikationer deraf. En saadan er den af Dr. Carl Jul. Salomonsen til Kulturer af Forraadnelses-Bakterier anvendte Kolbe [1]. I alle disse Tilfælde var Renkulturen en Massekultur, idet Opgaven i væsentlig Grad gik ud paa at komme til Kundskab om, hvilke kemiske Omsætninger der under visse givne Forhold fremkaldes af den dyrkede Organisme.

Ønsker man derimod Skridt for Skridt at følge de Forandringer, den Udvikling, som selve Mikroorganismen kan gjennemgaa, da maa man slaa ind paa en anden Vej, og medens den første Methode fører ind paa Kemiens Omraade, er den sidste derimod væsentlig af morfologisk Natur. Vi maa nemlig benytte Mikroskopet og paa dette Instruments Bord paa en passende Maade anbringe den paagjældende lille Organisme med tilhørende Næringsvædske. Et Exempel herpaa er ogsaa givet i den udviklingshistoriske Del af Undersøgelsen over Saccharomyces apiculatus.

[1]) Carl Jul. Salomonsen, Eine einfache Methode zur Reincultur verschiedener Fäulnissbacterien (Botan. Zeit. 1880. No. 28).

Som Hjælpemiddel er der i Tidernes Løb blevet dannet forskjellige Kamre: Recklinghausen's, Geissler's, Böttcher's, Ranvier's og andre. De to i den nyere Tid vistnok mest anvendte ere Böttcher's og Ranvier's, som begge ere beskrevne i et af mine tidligere Arbejder. Hvert af disse Kamre har sine særegne Fortrin og Mangler.

Det nye, som jeg har konstrueret, og hvorom jeg her skal give en Meddelelse, er et Forsøg paa i eet Exemplar at forene alle Fortrinene ved de to nævnte Typer af Böttcher og Ranvier.

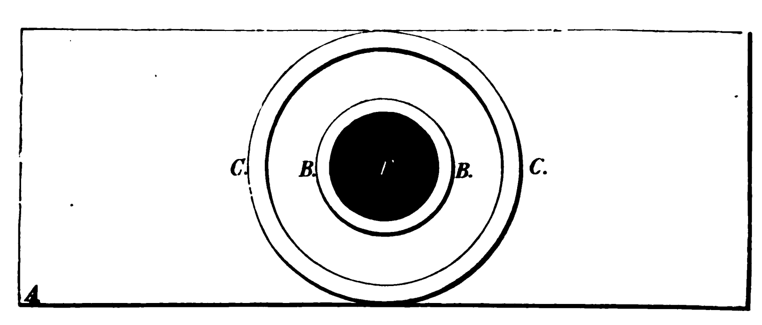


Fig. 1.

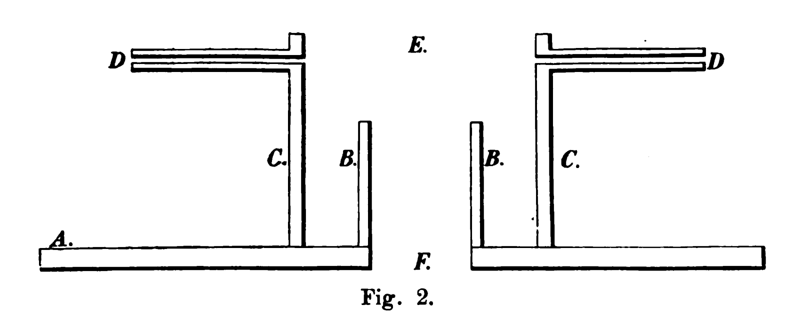


Fig. 2.

Som Fig. 1 og 2 vise, bestaar det af et Objektglas (*A*) med en kredsrund Aabning (*F*). Omkring denne findes en Ring (*B*), og i Afstand fra denne atter en anden men højere Ring (*C*). I dennes øverste Del er der parallel med Objektglassets største Side anbragt to Lufttilledningsrør (*D*). Disse ere kun afbildede i Fig. 2, som viser et Længdesnit af hele Apparatet. Rummet mellem de to Ringe (*B* og *C*), fyldes med destilleret Vand, og Aabningen foroven (*E*) lukkes med en Glasskive. Næringsvædsken og vedkommende Mikroorganisme anbringes paa den opadvendte Flade af et Dækglas, som ved Hjælp af Vaseline, hver Gang en Kultur skal begynde, gjøres fast til Objektglassets nedadvendte Flade, hvorved

altsaa Aabningen (*F*) lukkes. Den omtalte Glasskive maa naturligvis ogsaa fæstnes ved Hjælp af et eller andet passende Stof, f. Ex. Vaseline, til Ringen (*C*). Naar Rørene (*D*) kun benyttes til Indledning af atmosfærisk Luft, er det rigtigst før Experimentets Begyndelse at lukke dem med vel rensede Bomuldspropper.

I dette Kammer har Næringsvædsken ligesom i Böttcher's en fri Overflade (denne er her opad- og ikke nedadvendt, hvilket i flere Tilfælde er et Fortrin) og ligesom i Ranvier's et roligt Leje. En anden god Egenskab bestaar deri, at Vandet, som skal hjælpe til at hindre Fordampningen af Næringsvædsken, her ligesom i det sidstnævnte Kammer er adskilt fra denne. Konstruktionen tillader endvidere at indføre ny Næringsvædske og at borttage Partier af den gamle, uden at man derfor, idetmindste under visse Forhold, behøver at forstyrre den tilstedeværende Vegetation; man er saaledes ogsaa istand til her, efter at man har begyndt med Dyrkning af en enkelt Celle, gradevis at gaa over til en Massekultur.

Dette Kammer kan naturligvis kun benyttes til Mikroskoper, hvis Bygning er saaledes, at Objektivet befinder sig nedenunder og Belysningsspejlet ovenover den Gjenstand, man ønsker at betragte. Disse »Microscopes renversés« forfærdiges af Nachet i Paris. Carlsberg Laboratoriet ejer den nye store Model deraf. Pasteur og Nachet have ogsaa hver konstrueret et fugtigt Kammer til Brug ved disse Mikroskoper; de adskille sig fra det beskrevne derved, at de mangle et Vandbassin til at hindre Næringsvædskens Fordampning.

Det er især ved Studiet af visse vanskelige Former (som f. Ex. Mycoderma aceti), der til deres Udvikling kræve en fri Overflade paa Næringsvædsken og rigelig Adgang til Luft, at det nye Kammer har Betydning. Ogsaa i andre Retninger vil det dog med Fordel kunne benyttes, idet Forskeren ved Hjælp deraf lettere bliver istand til at forfølge den hele Udvikling af en højere Svamp, f. Ex. af en Coprinus, lige fra Sporen indtil Sporehusets Dannelse.

Nogle Iagttagelser over Invertin.

Af

J. Kjeldahl.

De efterfølgende Forsøg ere anstillede med et ligefremt Vandudtræk af renset Undergjær, tilberedt ved at henstille Pressegjær i nogle Timer ved 30—40° med saameget Vand, at det hele dannede en tykflydende Masse; denne blev underkastet Presning og den udpressede Vædske filtreredes klar. Ofte bleve dog Forsøgene gjort om med en Fermentopløsning, som erholdtes ved gjentagne Fældninger af det omtalte Vandudtræk med Vinaand, Gjenopløsning i Vand o. s. v., indtil Bundfaldet opløste sig uden at efterlade nogen Rest; en slig Opløsning forholdt sig væsentlig paa samme Maade som Vandudtrækket, kun var Virkningen betydelig svagere. Samme Virkning faar man ogsaa af Gjær efter Tilsætning af en Thymolopløsning (jvfr. pag. 355).

Temperaturens Indflydelse paa Inversionen.

Ligesom ved alle andre Fermenter tilintetgjøres Invertinets Virksomhed ved en Varmegrad, der endnu langtfra naar Kogepunktet, medens den paa den anden Side ved meget lave Temperaturer, i Nærheden af 0°, kun ytrer sig svagt. Imellem disse Yderpunkter ligger en Optimumstemperatur, hvor Virkningen naar sit Maximum. Om Beliggenheden af dette Optimum finder man ikke nærmere Oplysninger i Litteraturen; i en Afhandling af M. Barth (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1878, pag. 474)

angiver Forf. lejlighedsvis 40° som den gunstigste Temperatur. For nærmere at bestemme denne, har jeg foretaget nogle Forsøgsrækker ganske i Lighed med de tilsvarende med Diastase (jvfr. »Meddelelser« pag. 136); man lader samme Mængde Invertinopløsning (eller Gjær og Thymol) virke paa samme Mængde 10 pCt.s Rørsukkeropløsning i lige lang Tid, men ved forskjellige Temperaturer. Efter den bestemte Tids Forløb standses Invertinets Virkning ved hurtig Opvarmning eller bedre ved Tilsætning af nogle Kub.-Centimeter Sublimatopløsning, Vædsken fyldes op til et bestemt Rumfang, filtreres og Drejningen ved 20° (α_{20}°*), reduceret til det oprindelige Rumfang, bestemmes. En saadan Forsøgsrække anføres:

50 Kub.-Centimeter 10 pCt.s Rørsukkeropløsning behandles med 10 Kub.-Cent. Invertinopløsning i 1 Time ved nedenstaaende Temperaturer. Virkningen standses ved Tilsætning af 1 Kub.-Cent. Sublimatopløsning, man afkjøler, fylder op til 100 Kub.-Cent. og filtrerer. Forinden Sukkeropløsning og Fermentopløsning blandedes, vare begge opvarmede til Forsøgstemperaturen.

Forsøgs-temperaturen.	α 20°.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i pCt.
0°.	6,35°	0,32°	4
18°	5,55°	1,12°	13
30°	4,62°	2,05°	23
40°	3,67°	3,00°	34
45°	3,02°	3,65°	41
48°	2,82°	3,85°	44
50°	2,67°	4,00°	45
52½°	2,62°	4,05°	45½
55°	2,67°	4,00°	45
60°	3,68°	2,99°	34
65°	6,27°	0,40°	5
70°	6,63°	0,04°	0

[1]) For Kortheds Skyld betegnes her og i det Følgende Drejningen for Natriumlys i et 100 mm langt Rør simpelthen ved α. Forsaavidt Temperaturen ved Polarisationen er iagttaget, er den angivet foroven tilhøjre, $\alpha^{20°}$ betyder altsaa Drejningen i et 100 mm langt Rør ved 20°.



Det ses heraf, at Virkningen ved 0° var overmaade svag, og at den ganske var udslukket ved 70°. Fra 0° stiger den med Temperaturen, i Begyndelsen langsomt, senere stærkere, indtil den ved 52—53° naar sit Maximum. Dette er altsaa Optimumstemperaturen; overskrides denne, gjentager det samme Forhold sig, som vi kjende fra Diastasen og andre opløselige Fermenter, nemlig at Virkningen nu aftager med rivende Hurtighed. Allerede ved 10° over Optimum have vi næppe 1/8 af Fermentevnen tilbage, og ved 15° derover er denne aldeles tilende. Ved den nævnte Temperatur, 52—53°, har Diastasen ogsaa omtrent naaet sin største Virkning, men denne holder sig ved dette Ferment saa temmelig uforandret indtil 63°, hvor Invertinet allerede er stærkt paa Tilbagegang. Invertinets Virkning er ogsaa ophævet ved en Temperatur, hvorved Diastasen endnu virker ret kraftigt (70°).

Det i denne Forsøgsrække anvendte Ferment var fremstillet af Undergjær; ganske lignende Resultater fik man ved Anvendelse af Undergjær og Thymol (jvfr. pag. 355). Overgjær forholder sig paa en noget lignende Maade, som det vil ses af følgende Forsøgsrække.

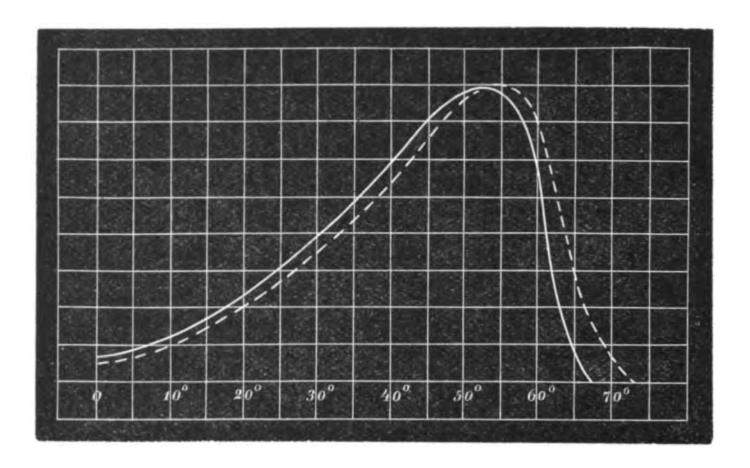
Forsøgs-temperatur.	α 20°.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i pCt.
0°	6,40°	0,27°	3
20°	5,60°	1,07°	12
45°	3,28°	3,89°	38
50°	2,74°	3,93°	44
53°	2,66°	4,01°	45
55°	2,57°	4,10°	46
57°	2,59°	4,08°	46
60°	3,10°	3,57°	40
65°	5,15°	1,52°	17
70°	6,31°	0,36°	4
75°	6,67°	0	0

Altsaa ligger Overgjærens Optimum nogle faa Grader højere (ved 56°), ligesom ogsaa dens inverterende Virksomhed først ophæves ved en lidt højere Temperatur end Undergjærens. Da dette har gjentaget sig i flere Forsøgsrækker med Invertin fremstillet af

Overgjær og Undergjær fra forskjellige Bryggerier, tør dette vel antages at være en konstant Forskjel mellem de to Gjærarter.

Som det vil ses, ligger den Temperatur, som er gunstigst for Gjærens inverterende Virksomhed, langt over den, hvorved Gjæringen foregaar livligst, idet Invertinets Optimum endogsaa falder sammen med den Temperatur, hvorved Gjæren efter almindelige Angivelser dræbes (53°).

I hosstaaende Kurver ere disse Forhold fremstillede paa en lettere anskuelig Maade; Abscisserne ere proportionale med Temperaturen, Ordinaterne med den inverterede Mængde Rørsukker, den fuldt optrukne Kurve forestiller Virkningen af Undergjær-Invertin, den punkterede af Overgjær-Invertin.



Koncentrationens Indflydelse paa Inversionen.

Medens Diastasen virker nogenlunde lige kraftigt i stærke og svage Opløsninger, forholder Invertin sig paa en ganske anden Maade, idet dens Virkning varierer meget betydeligt efter Rørsukkeropløsningens Koncentration. Følgende Forsøgsrække viser dette.

50 Kub.-Centimeter Rørsukkeropløsning af varierende Styrke behandledes med 10 Kub.-Cent. Fermentopløsning i 1 Time ved 52°. Virkningen standset ved Sublimat, o. s. v.

Rørsukker-opløsningens Styrke i Volumenprocent.	α før Behandlingen med Invertin.	α 20° efter Behandlingen med Invertin.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i Grm.
3	1,81°	0,37°	1,44°	0,80
5	3,34°	1,28°	2,06°	1,18
10	6,66°	3,98°	2,68°	1,50
15	9,99°	7,10°	2,89°	1,62
20	13,20°	9,94°	3,26°	1,83
30	19,95°	16,95°	3,00°	1,68
40	26,56°	23,46°	3,10°	1,74

Altsaa stiger Invertinets Virkning i Begyndelsen meget stærkt med Koncentrationen, indtil denne har naaet 20 pCt. Ved endnu større Koncentrationer er Forholdet noget uregelmæssigt, idet Virkningen paa en 30 pCt.s Opløsning viste sig noget svagere end paa en 20 pCt.s for atter at stige lidt ved en 40 pCt.s Opløsning.

Tidens Indflydelse paa Inversionen.

Forsøgene anstilledes efter det almindelige Skema, idet man med Sublimat standsede Virkningen efter Forløbet af ulige lang Tid, medens forøvrigt alle andre Betingelser vare de samme.

1. 50 Kub.-Centimeter 10 pCt.s Rørsukkeropløsning behandledes med 10 Kub.-Cent. Fermentopløsning ved 52° i følgende Tider.

Forsøgets Varighed.	α 20°.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i Procent.
10 Minutter	5,96°	0,71°	8
20 —	5,33°	1,34°	15
30 —	4,62°	2,05°	23
45 —	3,73°	2,94°	33
1 Time	2,83°	3,84°	43
2 Timer.	0,16°	6,51°	73
3 —	—1,09°	7,76°	87
4 —	—1,81°	8,48°	95
6 —	—2.16°	8,83°	99

2. Samme Forsøg med 2 Kub.-Cent. Fermentopløsning (+ 8 Kub.-Cent. Vand).

Forsøgets Varighed.	α 20 °.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i Procent.
1 Time	5,78 °	0,89 °	10
2 Timer	4,89 °	1,78 °	20
3 —	4,08 °	2,59 °	29
4 —	3,55 °	3,12 °	35
6 —	2,66 °	4,01 °	45
12 —	1,23 °	5,44 °	61
24 —	0,43 °	6,24 °	70
36 —	0,07 °	6,60 °	74
48 —	—0,02 °	6,69 °	75

Karakteristisk for Invertinet er saaledes den langsomme Virkning, idet den, der kun i den første Periode er nogenlunde proportional med Tiden, fortsætter sig gjennem 24 Timer og endnu længere, navnlig ved smaa Mængder af Ferment.

Med Hensyn til Indflydelsen af Fermentets Mængde paa Inversionen, da var den, som man kunde vente, nogenlunde proportional med Fermentmængden, navnlig naar kun en mindre Mængde (indtil 40 pCt.) af Rørsukkeret blev omdannet. Imidlertid var dette Forhold her langt mindre udpræget end ved Diastase (jvfr. »Meddelelser« pag. 130 o. flg.).

Overfor fremmede Stoffer er Invertinet ligesaa følsomt som Diastasen. Alkalier (Natron, selv kulsurt Natron) selv i meget ringe Mængde tilintetgjøre Virkningen, meget stærkt virker ligeledes Sublimat og andre Kviksølvforbindelser, Salicylsyre og Borax. Forsøg over fremmede Stoffers Virkning ere anstillede af J. Wernitz (Ueber die Wirkung der Antiseptica auf ungeformte Fermente. Inaugural-Dissertation, Dorpat 1880).

Hvad Virkningen af Syrer angaar, da er det ved dette Ferment naturligvis kun muligt at undersøge denne indenfor meget snævre Grændser, idet Syrerne jo endog i stærkt fortyndet Tilstand fremkalde den samme Omdannelse af Rørsukkeret som Fermentet. Wernitz finder, at Inversionen bliver mindre ved en for-

øget Tilsætning af Syre (Svovlsyre eller Saltsyre) indtil en vis Grændse; overskrides denne, stiger Inversionen paany, som Følge af Syrens egen Virkning paa Rørsukkeret. Jeg har fundet dette Forhold bekræftet, men tillige kunnet paavise, at Inversionen i Blandinger af Rørsukker og Ferment stiger ved Tilsætning af ganske ringe Mængder Syre, dernæst synker stærkt ved Tilsætning af lidt mere, for endelig ved endnu større Mængder Syre paany at stige. Medens det sidste, som sagt, maa skrives paa Syrens egen Regning, skyldes det førstnævnte Forhold aabenbart en begunstigende Virkning af Syren paa Fermentet, og vi have altsaa her en fuldstændig Analogi med Diastasen (jvfr. »Meddelelser« pag. 172).

50 Kub.-Centimeter 10 pCt.s Rørsukkeropløsning + 10 Kub.-Cent. Fermentopløsning + n Kub.-Cent. Syre + 50—n Kub.-Cent.-Vand. 1 Times Henstand ved 52°. Fermentvirkningen standset ved Sublimat.

Kub.-Cent. $\frac{1}{100}$ normal Svovlsyre.	α_{20} °.	Nedgang.	Inverteret Rørsukker i Procent.
0	$1{,}50$°	$5{,}17$°	58
2	$1{,}44$°	$5{,}23$°	58½
5	$1{,}32$°	$5{,}35$°	60
10	$1{,}52$°	$5{,}15$°	58
30	$4{,}08$°	$2{,}59$°	29
50	$3{,}06$°	$3{,}61$°	40

Invertin paavirker aldeles ikke Maltose.

50 Kub.-Centimeter Maltoseopløsning, som viste en Drejning $\alpha = 4{,}54°$, behandledes med 10 Kub.-Cent. stærk Fermentopløsning i 18 Timer ved 52°. Drejningen var da (reduceret til det oprindelige Rumfang) $\alpha = 4{,}58°$.

Ligesaalidt paavirkes Maltose af en Blanding af Diastase og Invertin:

Af den ovennævnte Maltoseopløsning behandledes 50 Kub.-Cent. med 10 Kub.-Cent. stærk Invertinopløsning og 30 Kub.-Cent. Maltudtræk i 18 Timer ved 52°. Drejningen var da $\alpha = 4{,}78°$. Et Parallelforsøg med 50 Kub.-Cent. Vand istedetfor Sukkeropløsningen gav en Drejning $\alpha = 0{,}26°$. $4{,}78° - 0{,}26° = 4{,}52°$ viser, at Maltoset er forblevet uforandret. Naar Gjæringen af Maltose

derfor paaskyndes ved Tilsætning af Diastase, hvad der i meget paafaldende Grad er Tilfældet, skyldes dette ikke en Omdannelse til Dextrose ved den forenede Virkning af Diastase og Invertin. Maltose paavirkes ikke heller af Invertin i alm. Skimmelsvamp, Penicillium glaucum. Denne yderst udbredte Svamp er rig paa inverterende Ferment, saa at en Rørsukkeropløsning, hvori den udvikler sig, hurtigt omdannes til Invertsukker. I en Maltoseopløsning, hvori Penicillium udvikler sig med samme Frodighed, fremkalder den derimod ingen Forandring af Sukkeret; dette svinder vel langsomt i Mængde paa Grund af Forbrændingen, men Opløsningen vedbliver at udvise det samme Forhold mellem Drejning og Reduktion, som Bevis for, at Maltoset forbliver uforandret.

Paa lignende Maade bevistes det, at Invertinet var uden Virkning paa de forskjellige Dextriner og opløselig Stivelse, paa Inulin, paa Gummi, kort sagt paa de Kulhydrater, der hyppigst forekomme i Planteriget; at det er uden Virkning paa Dextrose og Lævulose følger af sig selv. En Anvendelse heraf vil findes i den følgende Afhandling.

Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt
med særligt Hensyn til Forekomsten af Rørsukker.

Af

J. Kjeldahl.

Naar Spiringen indtræder, udvikler den unge Plante sig jo, som bekjendt, i Begyndelsen paa Bekostning af de i Frøet medgivne Reservenæringsstoffer. Disse ere imidlertid tilstede i en Form, hvori de ikke ligefrem ere tilgjængelige for Kimplanten, idet de nemlig enten ere uopløselige i Vand, saasom Stivelse, Cellestof eller Fedt, eller, trods deres Opløselighed, ikke direkte kunne assimileres, f. Ex. Rørsukker. Spiringsprocessen er derfor ledsaget af en Række kemiske Forandringer i Frøet, der væsentlig gaa ud paa at omdanne disse Reservenæringsstoffer paa en saadan Maade, at de kunne bearbejdes af Kimplanten, en Omdannelse, der bestandig synes at foregaa under Indvirkning af forskjellige Fermenter, der ligeledes dannes under Spiringen. Den mest iøjnefaldende af disse Forandringer er derfor ogsaa denne, at Mængden af de i Vand opløselige Stoffer forøges meget betydeligt; disse opløselige Stoffer ere da dels Kulhydrater, dels Æggehvidestoffer og andre kvælstofholdige Stoffer, der maa betragtes som Afledningsprodukter af hine, og af hvilke navnlig Asparaginet forekommer hyppigt og tilskrives en meget vigtig Rolle ved Stofvandringen. Samtidig med Dannelsen af disse opløselige Stoffer lider Frøet et absolut Tab i Vægt, idet en Del af dets kvælstoffrie Bestanddele ved en Slags Aandedrætsproces forbrændes til Kulsyre og Vand.

Byggets Omdannelse til Malt, og derved dets Anvendelse til Brygning, beror jo, som bekjendt, paa de kemiske Forandringer, som finde Sted i Spiringens første Perioder, og den betydelige praktiske og videnskabelige Interesse, der derfor knytter sig til denne Proces,

har gjort den til Gjenstand for et betydeligt Antal kemiske Undersøgelser. Ved disse Undersøgelser har man da dels holdt sig til Kornet som Helhed, idet man søgte at fastslaa dets procentiske Indhold af Sukkerarter, Stivelse, Æggehvidestoffer o. s. v. paa de forskjellige Stadier af Spiringen, dels har man søgt ved Mikroskopets Hjælp at følge ogsaa de kemiske Forandringer, der foregaa samtidig med Kimplantens Udvikling og paa denne Maade skaffe sig et nøjere Indblik i Stoffernes Vandring, end det kan ske ved den makrokemiske Undersøgelse af det hele Frø. Unægtelig har man jo ved den mikrokemiske Undersøgelse den væsentlige Fordel at kunne forfølge den lokale Optræden af mange Stoffer, se, hvorledes Stivelsen forsvinder af visse Partier og dannes paany i andre, iagttage Sukkerets Fremtræden i Saften af Celler, hvori det tidligere manglede, o. s. v., Alt noget, som den almindelige kemiske Analyse naturligvis ikke kan give nogen Oplysning om. Men paa den anden Side er man i Mikrokemien meget indskrænket i Valget af sine Methoder og Reagenser, og om en Adskillelse af forskjellige nærstaaende Stoffer vil der her kun i de færreste Tilfælde kunne være Tale. Hertil kommer, at den kvantitative Analyse ved den mikroskopiske Undersøgelse jo i Reglen maa indskrænke sig til et blot Skjøn. Af almindelige kvantitative Analyser af spirede og uspirede Frø foreligger der imidlertid ogsaa et anseligt Antal; med Hensyn til Adskillelsen af de enkelte her forekommende Stoffer er der dog kun ydet temmelig lidet. Betragte vi Kornsorterne, af hvilke man har det største Antal Analyser, da er Stivelse her det vigtigste Reservenæringsstof, og de opløselige Kulhydrater, som optræde under Spiringen, maatte derfor antages at stamme derfra, hvorfor det laa nær at formene, at det var de samme, som vi kjende fra Stivelsens Omdannelse ved Fermenter udenfor Organismen. Man nøjedes derfor med at bestemme Udtrækkets Reduktionsevne for alkaliske Kobberopløsninger før og efter Behandling med Syre og beregnede derefter de paagjældende Kulhydrater som Druesukker og Dextrin, eller, efterat det var bleven paavist, at Stivelsen omdannes til Maltose og Dextrin, som disse to Stoffer. Berettigelsen hertil søgte man imidlertid, som sagt, kun deri, at Stivelsen faktisk kunde omdannes paa denne Maade, medens man egentlig ikke var istand til at paavise Maltose og Dextrin i Kornet ved direkte Prøver. I Virkeligheden behøver man dog kun at røre lidt ved Spørgsmaalet, for at komme til det Resultat, at den omtalte Virkning idetmindste er ledsaget af andre, at der dannes andre opløselige Kulhydrater end de nævnte ved Spiringen. Men ligesaa let, som det er at komme paa det

Rene hermed, ligesaa vanskeligt viser det sig at udtømme Spørgsmaalet og faa Klarhed over Arten og Mængdeforholdet af alle de forskjellige Stoffer, som optræde, selv om man kun holder sig til Kulhydraternes Gruppe. I de følgende Undersøgelser er der forsøgt at give et Bidrag hertil; forinden maa jeg dog gjøre et Par almindelige Bemærkninger om den kvantitative Bestemmelse af Kulhydrater, der forekomme blandede indbyrdes.

Som bekjendt, er man ved den kvantitative Bestemmelse af disse Stoffer afskaaren fra den sædvanlige Vej, som navnlig i den uorganiske Analyse næsten altid følges, at udskille Stoffet af Opløsningen i en uopløselig Forbindelse af bestemt og bekjendt Sammensætning og veje denne. Man maa nøjes med indirekte Methoder, og af disse ere da to af overvejende Betydning, den ene Bestemmelsen af Reduktionsevnen for alkaliske Kobberopløsninger, den anden Bestemmelsen af den optiske Drejningsevne. Naar Opløsningen kun indeholder ét Kulhydrat og forøvrigt ingen reducerende eller drejende Stoffer, vil man da ved at kombinere begge Methoder kunne skaffe sig fuldstændig paalidelige Oplysninger baade om den foreliggende Art og om Mængdeforholdet. Vanskeligere stiller Sagen sig, naar flere opløselige Kulhydrater forekomme sammen, Bestemmelsen af dem bliver da indirekte i dobbelt Forstand, og efter Antallet af ubekjendte Stoffer maa vi da ogsaa søge at forøge Antallet af Ligninger, hvori de forekomme. Jeg skal kortelig omtale de Veje, man har fulgt for at forøge Bestemmelsernes Antal, Veje, som forøvrigt ville være vel bekjendte, men hvis Utilstrækkelighed jeg tillige skal faa Lejlighed til at belyse noget nærmere.

Først er der disse Stoffers forskjellige Opløselighed i Vinaand. Sukkerarterne ere opløselige, Dextrin- og Gummiarterne uopløselige i stærk Vinaand. Men disse Forhold, der i den kvalitative Analyse yde os den væsentligste Hjælp, ere næsten ganske unyttige for den kvantitative Bestemmelse, i det paa den ene Side Vinaand af en Opløsning fælder Stoffer, der i og for sig ere opløselige, sammen med de uopløselige (man ved f. Ex., hvor falske Resultater den gamle Dextrinbestemmelse ved Fældning med Vinaand gav), paa den anden Side lade de opløselige Stoffer sig ikke udtrække fuldstændigt med Vinaand af en tør Blanding, der tillige indeholder de uopløselige; saaledes lykkes det ikke blot tilnærmelsesvis at udtrække Maltoset af en Blanding med Dextrin, selv ved nok saa ofte gjentagen Behandling med Vinaand.

Som bekjendt lade de fleste almindelig forekommende Kulhydrater sig ved Kogning med fortyndede Syrer overføre til andre,

i Almindelighed til Dextrose eller Lævulose, hvorved altsaa Drejningsevne og Reduktion forandres paa en for hvert enkelt Stof karakteristisk Maade. Naar Maltose saaledes omdannes til Druesukker, vil 1 Grm. Maltose pr. 100 Kub.-Centimeter (1 Volumenprocent), som drejer $\alpha = 1{,}_{88}{}^0$ og reducerer S[1]) $= 0{,}_{61}$[2]) % give $1{,}_{05}$ Volumenprocent Dextrose med $\alpha = 0{,}_{53}{}^0 \, . \, 1{,}_{05} = 0{,}_{56}{}^0$ og $S = 1{,}_{05}$ %. For hver Volumenprocent Maltose, der paa denne Maade omdannes, skal altsaa α formindskes med $0{,}_{82}{}^0$, medens S skal forøges med $0{,}_{44}$ %. 1 Volumenprocent Rørsukker giver en Drejning $\alpha = 0{,}_{666}{}^0$, men ingen kjendelig Reduktion; ved Behandling med fortyndet Syre opstaar deraf $1{,}_{0526}$ Volumenprocent Invertsukker, som give en Drejning $\alpha_{20^0} = -0{,}_{215}{}^0 \, . \, 1{,}_{05} = -0{,}_{226}{}^0$ og $S = 1{,}_{05}$ %. For hver Volumenprocent Rørsukker, Opløsningen indeholder, vil man altsaa ved Behandling med Syre faa en Formindskelse af α_{20^0} paa $0{,}_{862}{}^0$, en Forøgelse af S paa $1{,}_{05}$ %. 1 Volumenprocent Dextrin giver ved tilbørlig længe fortsat Behandling med Syre $1{,}_{11}$ % Dextrose; herved indtræder en Forandring fra $\alpha = 1{,}_{97}{}^0$[3]) og $S = 0$ for 1 Dextrin til $\alpha = 0{,}_{53}{}^0 \, . \, 1{,}_{11} = 0{,}_{59}{}^0$ og $S = 1{,}_{11}$ % for $1{,}_{11}$ Dextrose, ɔ: for

---

[1]) Ved S (Sukkermængden) betegnes her og i det Følgende den Mængde Druesukker (i Volumenprocent), som svarer til Reduktionsevnen for Fehlings Vædske, uden Hensyn til, om denne Reduktion skyldes Druesukker, Maltose eller andre reducerende Sukkerarter, ved R (Reduktionsevne) Grm. Druesukker i 100 Grm. Extract. Naar en Opløsning f. Ex. indeholder 8 % Tørstof og 2 % Druesukker, da er $S = 2$ %, $R = 25$.

[2]) I »Meddelelser« pag. 118 er anført for Maltose $(\alpha)_D = 136^0$, $R = 65$—66 efter O'Sullivans og E. Schulzes oprindelige Angivelser. Ifølge nyere Undersøgelser af Soxleth, Hor. Brown, O'Sullivan o. Fl., anstillede med yderligere renset Maltose, maa $(\alpha)_D$ vistnok sættes til omtrent 138^0; Soxleth finder $138{,}6^0$ ved 20^0 (Drejningen aftager i ringe Grad, naar Temperaturen stiger), O'Sullivan finder $(\alpha)j = 154$—155^0, Hor. Brown $(\alpha)j = 153{,}1^0$; under Forudsætning af, at $(\alpha)_D = \frac{8}{9}(\alpha)j$, giver dette henholdsvis $(\alpha)_D = 137{,}3^0$ og $136{,}1^0$.

Efter Hor. Brown er Maltosets Reduktionsevne kun ca. 62. I nogle her fremstillede Præparater fandtes $R = 61$, naar Sukkerbestemmelsen foretoges paa den i »Meddelelser« pag. 129 omtalte Maade.

[3]) I »Meddelelser« pag. 118 er for Dextrin anført $(\alpha)j = 214^0$ efter O'Sullivans første Bestemmelser. Efter samme Forfatters seneste Angivelse er $(\alpha)j = 222^0$, hvoraf $(\alpha)_D = \frac{8}{9} \, . \, 222^0 = 197^0$.

hver Volumenprocent omdannet Dextrin formindskes α med $1{,}38^0$ og forøges S med $1{,}11\,^0/_0$.

. Denne Fremgangsmaade er den, man hidtil næsten udelukkende har holdt sig til, hvor det gjaldt om Bestemmelsen af Blandinger af Kulhydrater. Ofte kalder man en slig Behandling for »Inversion«, idet man overfører denne fra Rørsukkerets Omdannelse hentede Betegnelse paa tilsvarende Processer, f. Ex. Maltosets Omdannelse til Dextrose, hvor den dog egentlig ikke passer, da Drejningen her beholder samme Fortegn. Efter Omstændighederne har man modificeret Methoden ved at forandre Mængden eller Arten af Syren, Koncentrationen, Behandlingens Varighed og endelig Temperaturen, som man ofte ved at lade Processen foregaa i lukkede Rum, i Trykflasker, har ladet stige til langt over Vandets Kogepunkt f. Ex. til 110—115° (Dextrinbestemmelse efter Reischauer) eller 140—145° (Stivelsebestemmelse efter Pillitz). I den senere Tid har man dog ved Syrebehandlingen almindelig atter opgivet Trykflaskerne og de høje Temperaturer og bruger efter Sachses Forslag Saltsyre, som man lader indvirke i 2—3 Timer ved 100° i temmelig betydelig Mængde ($^1/_{10}$ Rumfang 25 Procents Saltsyre). Til Omdannelse af Rørsukker og Inulin fordres langt mindre energisk Behandling (se nedenfór).

Bestemmelserne af Drejning og Reduktion før og efter Behandling med Syre give ialt 4 Ligninger, hvoraf altsaa almindelig 4 Størrelser lade sig bestemme. Det vil dog ved saadanne Undersøgelser altid være nødvendigt at have mindst 1 Ligning flere, end der er Ubekjendte, idet man alene derved er istand til at kontrollere Arbejdets Rigtighed. Dette er saameget mere nødvendigt paa dette Omraade, idet vi, saa at sige, først komme til den kvalitative Analyse igjennem den kvantitative; denne skal som oftest ikke blot tjene til at bestemme Mængden af et vist Stof, Maltose, Druesukker eller andet, men tillige til at identificere dette Stof, hvortil man gjennem Kulhydraternes almindelige kvalitative Forhold overfor Reagenserne sjælden med Sikkerhed kan naa. Af de nævnte 4 Ligninger kan man derfor kun bestemme 3 Stoffer; jeg har oftere saaledes bestemt Dextrose, Maltose og Dextrin i en Blanding og anfører her som et Exempel de ved denne Bestemmelse benyttede Ligninger:

Lad a, b, c betegne Volumenprocent henholdsvis af Dextrose Maltose og Dextrin, α og S Drejning og Sukkermængde før Behandling med Syre, α' og S' de samme Størrelser efter denne Behandling. Man vil da have:

$$0{,}53^0 . a + 1{,}38^0 . b + 1{,}97^0 . c = \alpha \quad \ldots\ldots (1)$$
$$a + 0{,}61\, b = S \quad \ldots\ldots (2)$$
$$0{,}53^0 . a + 0{,}56^0 . b + 0{,}59^0 . c = \alpha' \quad \ldots\ldots (3)$$
$$a + 1{,}05 . b + 1{,}11 . c = S' \quad \ldots\ldots (4)$$

Ved at subtrahere (2) fra (4) faas Lgn.

$$0{,}44\, b + 1{,}11\, c = S' - S.$$

Ved at subtrahere (3) fra (1) faas Lgn.

$$0{,}82\, b + 1{,}38\, c = \alpha - \alpha'.$$

Heraf findes

$$b = 3{,}68\, (\alpha - \alpha') - 4{,}57\, (S' - S),$$
$$c = - 1{,}465\, (\alpha - \alpha') + 2{,}72\, (S' - S).$$

Indsættes disse Værdier for b og c i Lgn. (1), faas

$$a = - 2{,}24\, \alpha + 4{,}13\, \alpha' + 1{,}79\, (S' - S).$$

Ved at indsætte Værdien for b i Lgn. (2) faar man

$$a = - 2{,}24\, (\alpha - \alpha') + 2{,}79\, S' - 1{,}79\, S.$$

Subtraheres dette Udtryk for a fra det foregaaende, kommer man til Relationen $\frac{\alpha'}{S'} = 53^0$, som angiver, at den Sukkerart, vi finde efter Behandling med Syre, er Dextrose.

I et Tilfælde, som det her omtalte, kan man altsaa ad denne Vej faa de fornødne Oplysninger om Blandingsforholdet mellem 3 Arter af Kulhydrater, hvorved man dog altid maa tage Hensyn til, at Iagttagelsesfejlene ved slige indirekte Analyser faa en forholdsvis meget betydelig Indflydelse, saa at man ikke kan gjøre Regning paa nogen synderlig Nøjagtighed af Resultaterne. I andre Blandinger kan Methoden derimod aldeles ikke anvendes, og dette er uheldigvis Tilfældet netop med saadanne, som vi meget hyppigt støde paa i Naturen. Sagen er denne, at der, som allerede ovenfor berørt, ved de forskjellige herhen hørende Stoffer kræves en meget ulige Behandling med Syre for at føre Omdannelsen tilende; Syrens Mængde, Temperaturen og Behandlingens Varighed maa afpasses efter hvert enkelt Kulhydrats Natur. Naar en Blanding af saadanne behandles med Syre, ville da nogle være fuldstændig omdannede, medens andre kun ere lidet angrebne. Fortsætter man nu Kogningen, indtil ogsaa de sidste ere gaaede fuldstændig over til den nye Forbindelse, vil det vise sig, at de førstnævnte have lidt en dybere gaaende Forandring; deres Omdannelsesprodukter have ikke mere den optiske Evne eller det Reduktionsforhold, hvormed de skulde indgaa i Ligningerne, hvorved selvfølgelig de Resultater, man vil udlede af disse, blive falske. Som et godt og hyppigt forekommende Exempel herpaa kan anføres en Blanding af Maltose og Rørsukker. Jeg har, da Sagen for det følgende Arbejdes Skyld

var af Vigtighed, anstillet talrige Forsøg over disse to Stoffers Forhold ved Behandling med Syre og skal her anføre nogle enkelte af disse, der ville være tilstrækkelige til at belyse det omtalte Forhold:

100 Kub.-Centimeter Opløsning, som indeholdt 1 Grm. Sukker, opvarmedes i 2 Timer til 100° med forskjellige Mængder Saltsyre af 25 %. Efter nøjagtig Neutralisation med Natron blev Vædsken derefter inddampet til et Rfg. af 25 Kub.-Centimeter, og α og S bestemtes.

Maltose:

Den oprindelige Opløsning giver	$\alpha = 5{,}47^0$	S = 2,42 %
Efter fuldstændig Omdannelse skal den give.	- = 2,24⁰	- = 4,23 -
Efter Behandling med 0,5 Kub.-Cent. Saltsyre fik man .	- = 4,54⁰	- = 2,97 -
— — 2 — — .	- = 2,91⁰	- = 3,87 -
— — 5 — — .	- = 2,27⁰	- = 4,19 -
— — 10 — — .	- = 2,21⁰	- = 4,24 -

Rørsukker:

Den oprindelige Opløsning giver	$\alpha = 2{,}66^0$	S = 0 %
Efter fuldstændig Omdannelse skal den give .	$\alpha_{20^0} = -0{,}90^0$	- = 4,20 -
Efter Behandling med 0,5 Kub.-Ctm. Saltsyre fik man -	$= -0{,}86^0$	- = 4,20 -
— — 5 — — -	$= +0{,}03^0$	- = 3,90 -

Det ses heraf, at 0,5 Kub.-Centimeter Syre under de her angivne Betingelser have medført en fuldstændig Omdannelse af Rørsukkeret, vi finde her i Opløsningen Invertsukker med den sande Drejning og Reduktion. Ved en mere energisk Behandling med Syre lider Lævuloset en ejendommelig Forandring, idet dets Drejningsevne kjendelig formindskes, medens Reduktionsevnen holder sig nogenlunde uforandret. Ved yderligere Indvirkning af Syren træder denne Forandring bestandig stærkere frem; i Forsøget med 5 Kub.-Centimeter Syre er Invertsukkeret saa at sige optisk inaktivt, eller har en ganske svag Højredrejning, her er ogsaa Reduktionsevnen kjendelig aftaget, fra 4,20 % til 3,90 %, hvorhos Vædsken tillige farvedes gul eller gulbrun som et Kjendetegn paa en dybere gaaende Forandring i denne. Ved Maltose var Omdannelsen ved ½ Kub.-Centimeter Syre derimod ganske ufuldstændig, idet kun ca. 32 % vare gaaede over til Dextrose; først ved 5 Kub.-Centimeter er saagodtsom Alt omdannet hertil. Med 10 Kub.-Centimeter faar man paa det nærmeste samme Resultat, det viser sig altsaa her, hvad der jo forøvrigt er bekjendt nok, at Dextroset har en Modstandsevne overfor Syrer, der er mange Gange større end Lævulosets. Heraf fremgaar, at det er umuligt i en Blanding af Rørsukker og Maltose at faa dem begge omdannede til vel karakteriserede Produkter; enten faar man ufuldstændig

Omdannelse af Maltoset, eller delvis Destruktion af Invertsukkeret. Jeg har paa mangfoldig Maade varieret Forsøgsbetingelserne, ved Behandling med forskjellige Syrer, langvarig Indvirkning ved lavere Temperatur (80°), Anvendelse af meget smaa Syremængder ved høj Temperatur i Trykflasker o. s. v., men altid faaet Resultater, som væsentlig stemmede med de her angivne. Jeg er derfor ganske overbevist om, at det er umuligt ad denne Vej, selv blot tilnærmelsesvis, at bestemme disse to Stoffer, naar de forekomme sammen i en Opløsning. Som vi senere skulle se, er Ølurt netop en Opløsning af denne Beskaffenhed, idet den ved Siden af Maltose og Dextrin, der jo ere de vigtigste Bestanddele, indeholder ikke ubetydelige Mængder for største Delen inverteret Rørsukker og desuden et gummiagtigt Stof, der er forskjelligt fra Dextrin. I Almindelighed tager man ved Analysen kun Hensyn til Maltose og Dextrin og beregner deres Mængde af Ligningerne

$$0{,}61\ b = S,$$
$$1{,}05\ b + 1{,}11\ c = S'$$

(Bogstaverne betyde det samme som i Lgn. (1) (2) (3) (4) pag. 344), hvoraf faas

$$b = 1{,}64\ S,$$
$$c = -1{,}55\ S + 0{,}90\ S'.$$

Undertiden har man søgt at kontrollere Bestemmelserne ved tillige at iagttage Drejningen før og efter Behandling med Syre, idet man altsaa beregnede b og c af Ligningerne

$$1{,}38\ b + 1{,}97\ c = \alpha,$$
$$0{,}56\ b + 0{,}59\ c = \alpha',$$

hvoraf faas

$$b = -2{,}06\ \alpha + 6{,}88\ \alpha',$$
$$c = 1{,}95\ \alpha - 4{,}82\ \alpha'.$$

Paa Grund af de andre Kulhydraters Tilstedeværelse og deres forskjellige Forhold ved Inversionen vil man dog ikke faa samme Værdier for b og c af de to Par Ligninger, om der end i enkelte Tilfælde, hvor Indflydelsen af de andre Stoffer elimineres, kan indtræde en tilfældig Overensstemmelse.

En af de mest karakteristiske Forskjelligheder mellem Stofferne af denne Gruppe er deres Evne eller Mangel paa Evne til at gaa i vinaandig Gjæring. Man kunde haabe, at denne Forskjel kunde tjene til en Adskillelse, hvorved de gjæringsdygtige Stoffer fjærnedes af Opløsningen, medens de ikke gjæringsdygtige bleve alene tilbage. Man vilde da, idet Opløsningen nu indeholdt et færre Antal Stoffer, ogsaa have større Udsigt til ved andre Midler at kunne bestemme Blandingsforholdet. Vi støde imidlertid her paa

en Vanskelighed af lignende Beskaffenhed, som den der omtaltes pag. 341, idet Gjæringen sjælden gaar fuldstændig tilende, men der bliver større eller mindre Mængder i og for sig gjæringsdygtigt Sukker tilbage ved det ikke gjæringsdygtige. Idetmindste bliver Gjæringen, naar Mængden af Sukker er sunken til et vist Minimum, i høj Grad langsom, om den end ikke ganske standser, saa at det bliver praktisk umuligt at oppebie dens endelige Afslutning, ligesom ogsaa Vædsken, før dette Punkt indtræder, vil være hjemfalden til andre Gjæringsprocesser (Eddikesyre- og Mælkesyregjæringer), der ikke indskrænke sig til den Gruppe af Stoffer, vi almindelig betegne som gjæringsdygtige. Resten fra Gjæringen indeholder altsaa større eller mindre Mængder af Sukker; ligesom ved Udtrækning med Vinaand synes det, som om denne ikke bortgjærede Rest staar i et vist Forhold til Mængden af ikke gjæringsdygtigt Stof, saaledes at større Mængder heraf ogsaa forhindre større Mængder Sukker fra at gjære. Saaledes vil f. Ex. i en Opløsning af Maltose og Dextrin Gjæringen blive yderst langsom, naar den er skreden saa vidt frem, at Maltoset kun udgjør ca. 15—20 % af Blandingen (R = 9—12); det er aldrig lykkedes mig i en slig Blanding at bringe Gjæringen saavidt tilende, som O'Sullivan har naaet ved hans Fremstilling af rent Dextrin (R = 1 — 2). Det vil heraf ses, at vi ikke ere naaet stort videre ad denne Vej med Analysen af de ikke gjæringsdygtige Stoffer, da det jo med Hensyn dertil er temmelig ligegyldigt, om de ere blandede med større eller mindre Mængder af de gjæringsdygtige. Derimod kan man vel med Fordel anvende Gjæring for at komme paa Spor efter de gjæringsdygtige Stoffers Natur, idet disses Egenskaber og da navnlig Drejning og Reduktion ville kunne findes som Differensen af Opløsningens Egenskaber før og efter Gjæringen. Mængden af bortgjæret Sukker kan, som man ved, ret nøjagtigt sættes lig det dobbelte af den dannede Mængde Vinaand, idet Sukkerarterne af Glukosets Formel give 49 %, de af Rørsukkerets Formel 51 % Vinaand. Naar nu Bortgjæringen af 1 % Sukker er ledsaget af en Drejningsformindskelse paa $1{,}36^0$, en Reduktionsformindskelse paa $0{,}61$ %, da er Sukkeret Maltose, 1 % Druesukker vil give en Drejningsformindskelse paa $0{,}53^0$, en Reduktionsformindskelse paa $1{,}00$ %, 1 % Rørsukker vil ved fuldstændig Udgjæring give en Drejningsformindskelse paa $0{,}67^0$, 1 % Invertsukker vil ved fuldstændig Udgjæring give en Drejningsforøgelse ved 20^0 paa $0{,}215^0$ og en Reduktionsformindskelse paa $1{,}00$ %.

Ved Blandinger vil Gjæren ofte foretage et Udvalg mellem de forhaanden værende Sukkerarter, saaledes at nogle af disse for-

trinsvis gjære bort i de første Perioder, andre, de mindre gjæringsdygtige, først angribes paa et senere Stadium. Det første og smukkeste Exempel herpaa blev fremdraget af Dubrunfaut i 1847 (Comptes rendus, tome 25 pag. 307 og tome 42 pag. 904); han kalder Fænomenet udvælgende Gjæring, fermentation élective. Naar Invertsukker underkastes Gjæring, vil Dextroset fortrinsvis gjære bort i Begyndelsen, Lævuloset fortrinsvis henimod Slutningen. Ifølge Dubrunfaut forandrer Opløsningens Drejning sig ikke, medens de første 50 % gjære bort, som altsaa maa være et optisk inaktivt Sukker eller paa det nærmeste bestaa af 2 Dele Dextrose og 1 Del Lævulose. Naar Halvdelen er gjæret bort, vil Resten have en specifisk Drejning paa $(\alpha)_D^{20^0} = -43^0$ og være sammensat af 2 Molekyler Lævulose og 1 Molekyl Dextrose. Følgende Gjæringsforsøg bekræfte Rigtigheden heraf:

Gjæringens Varighed	α^{20^0}	S	$(\alpha)_D^{20^0}$
0 Timer	$-1{,}72^0$	8,2 %	-21^0
6 —	$-1{,}75^0$	7,1 -	-24.5^0
12 —	$-1{,}76^0$	5,7 -	-31^0
18 —	$-1{,}78^0$	4,3 -	-41^0
24 —	$-1{,}56^0$	3,5 -	$-44{,}5^0$
36 —	$-1{,}46^0$	3,2 -	-46^0
72 —	$-0{.}92^0$	1,45 -	-64^0

Ogsaa i den anden Halvdel af Gjæringen dekomponeres Dextroset forholdsvis hurtigst, hvilket viser sig ved, at den specifiske Drejning ikke bliver konstant ved — 43^0, men vedbliver at stige til henimod Gjæringens Slutning.

En Blanding af lige Dele Dextrose, fremstillet af Rørsukker, og Lævulose, fremstillet af Inulin, gav ved Gjæring et aldeles lignende Resultat.

Som et andet Exempel paa en udvælgende Gjæring kan anføres en Blanding af Dextrose og Maltose. O'Sullivan antager, at alt Dextroset i en slig Blanding vil gjære bort, før noget af Maltoset angribes. Dette vilde altsaa være et Exempel paa den højeste Grad af udvælgende Gjæring og give os et fortrinligt Middel ihænde til Adskillelsen af disse to nærstaaende Sukkerarter. Uheldigvis foretager Gjærsvampen dog ikke saa skarp en Adskillelse. Ganske vist er Dextroset den mest gjæringsdygtige af de to Sukkerarter, saa at det er noget fremherskende i den Blanding, der dekomponeres i den første Periode, medens det gjærende Sukker henimod Gjæringens Slutning er temmelig rent Maltose, men den

udvælgende Gjæring fremtræder dog her langt fra saa elegant som ved Invertsukkeret. Følgende Forsøg give en Forestilling herom:

Før Gjæringen

$\alpha = 9{,}79^0$, $S = 8{,}30\ ^0/_0$,

hvoraf findes[1])

Dextrose — $4{,}79\ ^0/_0$
Maltose — $5{,}14$ -

Efter 24 Timers Gjæring:

$\alpha = 6{,}41^0$, $S = 5{,}10\ ^0/_0$.

Dextrose — $2{,}96\ ^0/_0$
Maltose — $3{,}51$ -

Efter 48 Timers Gjæring:

$\alpha = 3{,}95^0$, $S = 2{,}40\ ^0/_0$.

Dextrose — $0{,}85\ ^0/_0$
Maltose — $2{,}54$ -

Ogsaa i almindelig Ølurt fremkalder Gjær en udvælgende Gjæring, hvor man dog ligesaa lidt som i de foran nævnte Forsøg træffer skarpe Overgange (jvf. Meddelelser pag. 5 o. flg.). Medens Bortgjæringen af $1\ ^0/_0$ Extrakt henimod Slutningen af Hovedgjæringen er ledsaget af en Drejningsformindskelse paa $1{,}30$—$1{,}37^0$, hvilket svarer til næsten rent Maltose, finde vi i Begyndelsen af Hovedgjæringen kun en Drejningsformindskelse paa $0{,}87^0$ for $1\ ^0/_0$ bortgjæret Extrakt, et Tal, der derpaa stiger ganske jævnt under Gjæringens Forløb.

Med Koldtvandsudtræk af Køllemalt har jeg foretaget adskillige saadanne Gjæringsforsøg, hvoraf her anføres et Par:

1.	Før Gjæringen	Efter Gjæringen	Forskjel
Tørstof[2]) . .	$6{,}97\ ^0/_0$	$3{,}66\ ^0/_0$	$3{,}31\ ^0/_0$
α	$2{,}58^0$	$0{,}50^0$	$2{,}08^0$
S	$2{,}52\ ^0/_0$	$0{,}67\ ^0/_0$	$1{,}85\ ^0/_0$
Vinaand. . .	0 -	1.55 -	1,55 -

Bortgjæret $3{,}10\ ^0/_0$ Sukker. For hver Procent er α aftaget $0{,}67^0$, S $0{,}60\ ^0/_0$.

---

1) I en Blanding af Dextrose og Maltose bestemmes disse af Lgn.

$$0{,}58\ a + 1{,}38\ b = \alpha,$$
$$a + 0{,}61\ b = S,$$

hvoraf

$$a = -0{,}577\ \alpha + 1{,}31\ S,$$
$$b = 0{,}946\ \alpha - 0{,}502\ S.$$

2) Tørstofmængden er her og i det Følgende bestandig beregnet af Opløsningens Vægtfylde og angivet i Volumenprocent efter Balling, hvortil svarer Divisoren 390. Efter nogle direkte Tørstofbestemmelser er den sande Divisor maaske noget højere, 400—410. Til Vægt-

2.	Før Gjæringen	Efter Gjæringen	Forskjel
Tørstof . . .	6,58 %	3,18 %	3,40 %
α	1,[illegible]0 °	0,02 °	1,82 °
S	2,71 %	0,48 %	2,23 %
Vinaand . . .	0 -	1,55 -	1,55 -

Bortgjæret 3,10 % Sukker. For hver Procent er α aftaget 0,59 °, S 0,72 %.

fyldebestemmelser benytte vi nu i Almindelighed et Pyknometer, som afviger noget fra det i »Meddelelser« pag. 10 omtalte. Det nu anvendte rummer saaledes kun omtrent 12 Kub. Centimeter, medens det tidligere beskrevne tog næsten 50 Kub. Cent. Da den mindre Vædskemængde langt hurtigere antager den konstante Temperatur, bruger man meget kortere Tid til en Bestemmelse med et lille Pyknometer end med et stort, medens man dog med et Apparat af den angivne Størrelse endnu opnaar en Nøjagtighed. der er aldeles tilstrækkelig i de fleste Tilfælde, idet Fejlen næppe vil overskride 1 Enhed i fjerde Decimal, hvad der svarer til omtrent 1/50 Procent Sukker. Endvidere har Stigrøret kun et Mærke og ender tæt over dette med en lille bægerformig Udvidelse. Naar Normaltemperaturen er indtraadt, borttager man med lidt Filtrerpapir Vædsken til dette Mærke, hvad der gaar meget let, tørrer af og vejer. Engang for alle har man bestemt Vægten af det destillerede Vand af Normaltemperaturen, som fylder Pyknometret til Mærket, da man her kun har denne ene konstante Divisor ved alle Bestemmelserne, vil samme Vægt af Pyknometer + Vædske altid svare til samme Vægtfylde. Man kan derfor let konstruere en Tabel, i hvis første Kolonne findes Vægten af Pyknometer + Vædske, i den anden de hertil svarende Vægtfylder. Man har da Vægtfylden af Vædsken, saasnart man har aflæst Lodderne paa Vægtskaalen, uden at behøve at foretage den mindste Regning, ikke engang at subtrahere det tomme Pyknometers Vægt. Hensigtsmæssigt er det i Tabellen for Vægtfylder større end 1 at tilføje endnu en 3die og en 4de Kolonne, hvoraf den ene angiver den til Pyknometervægten og tilhørende Vægtfylde svarende Mængde Rørsukker i 100 Kub. Centimeter (Volumenprocent), den anden Mængden heraf i 100 Grm. (Vægtprocent). Tabellen for Vægtfylder mindre end 1 suppleres hensigtsmæssigt med en 3die Kolonne, der angiver de tilsvarende Vinaandprocenter (Vægtprocent). Da en Tabel, der angiver Vægten fra Milligram til Milligram, dog vilde blive temmelig omfangsrig. lader man den skride frem med en Differens af 10 Milligram og interpolerer for mellemliggende Vægte. Et Exempel paa et Stykke af en slig Tabel:

Vægtfylden < 1		
Pyknometer + Vædske	Vægtfylde	Vægtprocent Vinaand
28,660	0,99294	3,98
28,650	0,99213	4,48
28,640	0,99132	5,00
28,680	0,99051	5,50

Vægtfylden > 1			
Pyknometer + Vædske	Vægtfylde	Sukker	
		Volumenprocent	Vægtprocent
28,940	1,01559	4,04	3,47
28,950	1,01640	4,25	4,18
28,960	1,01721	4,46	4,39
28,970	1,01802	4,67	4,59

Det vil heraf ses, at det gjæringsdygtige Sukker i et sligt Udtræk har en Reduktionsevne af gjennemsnitlig 66, altsaa omtrent som Maltosets, men en Drejningsevne af kun 65°, altsaa omtrent som Rørsukkerets. Da man ikke kjender noget Kulhydrat af disse Egenskaber, maa det her omtalte være en Blanding af flere forskjellige. Men da Reduktionsevnen af denne Blanding, som sagt, ligger nær ved Maltosets, vil man ved at bestemme S og deraf beregne Sukkeret som Maltose, faa et nogenlunde nøjagtigt Begreb om Mængden af de gjæringsdygtige Stoffer i Maltudtræk, om det end ikke er ganske korrekt at opføre disse som Maltose alene.

Naar det Spørgsmaal foreligger, om et gjæringsdygtigt Kulhydrat er et enkelt Stof eller en Blanding af flere saadanne, har man overhovedet intet sikrere Middel til Besvarelsen, end at undersøge, om den specifiske Drejning, eller Reduktionen holder sig konstant under hele Gjæringen, eller om Forholdet α : S forbliver uforandret. Saaledes paavises let ganske smaa Mængder af Dextrin i Maltose derved, at Forholdet α : S, som for Maltose skal være $2{,}26^{0}$, henimod Slutningen af Gjæringen voxer i betydelig Grad.

Da saaledes ingen af de tre gjængse Fremgangsmaader, Behandling med Opløsningsmidler, Inversion med Syrer eller Gjæring giver tilfredstillende Resultater, maa man se sig om efter andre Methoder. Det er lykkedes mig at finde en saadan for Rørsukker, som selv i meget komplicerede Blandinger giver tilfredsstillende Resultater. Det er pag. 338 omtalt, at Invertin blandt de almindelig forekommende Kulhydrater kun paavirker Rørsukker; Maltose, Dextrin, Inulin, Gummi forblive ganske uforandrede ved Behandling dermed. Anvendelsen af dette Forhold til Paavisning og Bestemmelse af Rørsukker ligger nær. Naar en Opløsning ikke indeholder Rørsukker, vil den forblive uforandret med Hensyn til Drejning og

---

Ved Bestemmelser, der skulle gjøres meget hurtigt, kan man strax borttage Vædsken til Mærket, idet man samtidig aflæser Thermometret, altsaa forbigaa Indstillingen paa Normaltemperaturen. Dette kan gaa an, naar den aflæste Temperatur ikke afviger meget fra den normale, og den undersøgte Opløsning i dette Temperaturinterval kan antages at udvide sig paa samme Maade som Vand, hvad der er Tilfældet med Sukker- og Extraktopløsninger, meget fortyndede Vinaandblandinger o. lgn. For hver Grad den aflæste Temperatur er højere eller lavere end den normale, maa man da til Vægtfylden i Tabellen addere eller fra samme subtrahere en for hvert Instrument bestemt Størrelse. Paa denne Maade lader en Pyknometerbestemmelse sig næsten udføre paa samme Tid som en almindelig Bestemmelse med Flydevægt, kræver dertil en langt mindre Mængde Vædske og giver en langt større Nøjagtighed.

Reduktion efter Behandling med Invertin, findes der derimod Rørsukker deri, vil der af en slig Behandling resultere en Nedgang i Drejningsevnen og en Forøgelse af Reduktionsevnen, forudsat naturligvis, at Opløsningen iøvrigt er af en saadan Beskaffenhed, at Fermentet uhindret kan udøve sin Virkning (Fraværelse af frie Alkalier og Syrer, Metalsalte o. s. v.). Saasnart Fermentet frembringer en slig Virkning, vil derved antydes Tilstedeværelsen af Rørsukker, fuldgyldigt Bevis herfor faar man dog først ved at undersøge Forholdet mellem de to Forandringer. For hver Volumenprocent Rørsukker, som Opløsningen indeholder, skal der efter Behandling med Invertin fremkomme en Formindskelse i Drejningen $\alpha_{20^0} = 0{,}666^0 + 0{,}226^0 = 0{,}892^0$ og en Reduktionsforøgelse paa $1{,}05\ ^0/_0$. Man kan nu beregne Rørsukkermængden enten ved at dividere Drejningsdifferensen med $0{,}892$ eller ved at dividere Reduktionsdifferensen med $1{,}05$, og de herved fundne Resultater skulle da stemme indbyrdes. Naar en slig Overensstemmelse finder Sted, synes der næppe at kunne levnes nogen Tvivl om det paagjældende Stofs Idenditet.

Medens, som tidligere fremhævet, de almindelige, overalt i Planteriget udbredte Kulhydrater ikke paavirkes af Invertin, Rørsukker undtaget, findes der vel adskillige, mere spredt forekommende Sukkerarter, der synes at omdannes af dette Ferment, uden at dog denne Omdannelse i alle Tilfælde er bleven nærmere studeret. Af disse Kulhydrater er Synanthroset det vigtigste; det forekommer udbredt i Knollerne af Synanthereae, navnlig af Dahlia og Helianthus tuberosus, og for nylig har A. Müntz (Compt. rendus, tome 87, pag. 679) paavist det som en Hovedbestanddel af umoden Rug, hvoraf det efterhaanden forsvinder, samtidig med at Stivelsemængden tager til; dog indeholder den fuldmodne Rug endnu 2—5 $^0/_0$ deraf. Særlig paa Grund af sidstnævnte Forekomst maa dets Forhold ved Invertering kortelig omtales. Synanthrose, som er fremstillet i 1870 af O. Popp, der gav det Formlen $C_{12}H_{22}O_{11}$, er selv uden Reduktions- eller Drejningsevne, men ved Behandling med Syre eller Gjær giver det et Sukker (ifølge Formlen 1,05 Dele) af Invertsukkerets Reduktionsevne, men med en Drejningsevne $(\alpha)_{D}20^0 = -44{,}6^0$[1]). Forholdet mellem Drejningsformindskelsen

---

[1]) O. Popp giver nemlig i sin Meddelelse om Synanthroset følgende Oplysninger om Drejningsevnen efter Behandling med Syrer. En 2 Procents Opløsning gav efter Invertering med nogle Draaber Svovlsyre en Drejning ved 17^0 C. i et Iagttagelsesrør paa 200^{mm} af 8,9^0 tilvenstre i Soleil-Dubosques Polarimeter. Da 1^0 Soleil-Dubosque

og Reduktionsforøgelsen er altsaa her $\frac{0{,}468^0}{1{,}05} = 0{,}446^0$, medens det ved Rørsukker er $\frac{0{,}892^0}{1{,}05} = 0{,}850^0$, altsaa saa vidt forskjelligt, at der ikke kan være Tale om en Forvexling af de to Stoffer.

Af andre Sukkerarter synes endvidere Melitose, Melezitose, Mykose (og Trehalose) at paavirkes mer eller mindre af Invertin. Men da disse Sukkerarter kun forekomme meget spredte, er deres Forhold i denne Henseende af mindre Interesse.

Med Hensyn til Methodens praktiske Udførelse kan man gaa frem saaledes. 50 Kub. Centimeter af den Opløsning, der skal undersøges, blandes, efterat Drejning og Reduktion ere bestemte, i en Flaske med nogle Kub. Cent. kraftig Invertinopløsning, der tør antages at besidde Fermentevne nok til at omdanne selv en betydelig større Mængde Rørsukker, end der kan foreligge. Flasken hensættes i et Vandbad, hvis Temperatur holdes paa omtrent 52^0 (jvfr. pag. 333), og bliver staaende her i henved 24 Timer, for at man kan være sikker paa, at Omdannelsen bliver fuldstændig. Man afkøler nu til almindelig Temperatur, fylder op til 100 Kub. Cent. og bestemmer paany Drejning og Reduktion. For at fastslaa, at den fremkomne Forandring kun skyldes Virkningen af Invertinet og ikke mulig tilstedeværende Spor af Syre eller deslige, der ogsaa kunde paavirke andre Stoffer end Rørsukker, gjør man bedst i at udføre et med det foregaaende aldeles parallelt Forsøg, kun med den Forandring, at man tager en Invertinopløsning, der iforvejen har været opvarmet til Kogepunktet, og hvor altsaa Fermentet er berøvet sin Kraft, men forøvrigt samme Mængde saavel heraf, som af Opløsningen, der skal undersøges, samme Temperatur og samme Varighed af Behandlingen. Den sidstnævnte Opløsning skal da give samme Drejning og Reduktion som den oprindelige.

$= 0{,}2167^0$ (Straalen D) bliver dette $-1{,}93^0$ ved 17^0 eller $-1{,}88^0$ ved 20^0. $2\,^0/_0$ Synanthrose ville give $2{,}11\,^0/_0$ reducerende Sukker, og den specifiske Drejning af dette vil altsaa ifølge Popp være $(\alpha)_D 20^0 = -\frac{0{,}94^0}{2{,}11} = -44{,}6^0$, det er, næsten nøjagtig det dobbelte af Invertsukkerets Drejning ved 20^0 ($(\alpha)_D 20^0 = -21{,}5$) og temmelig nær svarende til en Blanding af 2 Molekyler Lævulose og 1 Molekyl Dextrose (Annalen der Chemie & Pharmacie Bd. 156, pag. 181).

Det er ret mærkeligt, at Synanthrose altsaa giver en Sukkerblanding, der er ganske den samme, som vi træffe ved Invertsukker, efterat Halvdelen deraf er gjæret bort (jvfr. pag. 348).

Exempel:
Rørsukkeropløsning paa 3,15 Vol.procent:
$\alpha = 2{,}10^0$, S = 0.
Prøve med »passivt« Invertin:
$\alpha = 2{,}10^0$, S = 0 (stemmer med den oprindelige Opløsning).
Prøve med »aktivt« Invertin:
$\alpha_{20^0} = -0{,}72^0$, $S' = 3{,}25\ \%$.

$$\alpha - \alpha' = 2{,}82^0 \text{ giver } \frac{2{,}82}{0{,}892} = 3{,}16\ \% \text{ Rørsukker}$$

$$S' - S = 3{,}25\ \% - \frac{3{,}25}{1{,}05} = 3{,}10\ \% \quad \text{—}$$

Middeltal . . . 3,13 % Rørsukker
(istedetfor 3,15 %).

Hvis Opløsningen under Inversionen er bleven lidt uklar af udskilt Æggehvidestof, maa den filtreres før Undersøgelsen. Invertinopløsningen blev fremstillet ved at fælde Gjærudtræk med Vinaand, opløse dette Bundfald i Vand og filtrere. Det er imidlertid temmelig besværligt hver Gang at tilberede en slig Fermentopløsning, tilmed da den, som alle lignende Opløsninger, er meget udsat for Forandring ved Henstand; selv det tørre Invertinpulver taber ved længere Opbevaring i Virkeevne, uden forøvrigt at lide nogen tilsyneladende Forandring. I Virkeligheden behøves dette dog ikke heller, idet man paa flere Maader kan komme til at benytte Fermentet, uden først at isolere det. Da det hele kommer an paa at faa Inversion uden Gjæring, kunde man tage sin Tilflugt til saadanne Organismer, som vel indeholde Invertin, men ikke formaa at bringe Sukker i vinaandig Gjæring. Af saadanne kjender man mange, idethele synes det inverterende Ferment at være meget udbredt i Planteriget og at have nogenlunde lignende Egenskaber, hvoraf man saa fremstiller det. Som et Exempel paa en lavtstaaende Plante, der inverterer Rørsukker meget kraftigt, uden at forgjære det, kan nævnes den almindelige Skimmelsvamp, Penicillium glaucum. Heller ikke denne vilde dog være synderlig bekvem til analytisk Brug; derimod kan man med stor Fordel benytte sig af den Egenskab, som adskillige, navnlig aromatiske Stoffer have, nemlig selv i meget smaa Doser ganske at ophæve Virkningen af de organiserede Fermenter (Gjær, Bakterier), medens de ere ganske eller næsten ganske uden Indflydelse paa de opløselige Fermenter, f. Ex. Diastase og Invertin. Af saadanne Stoffer kunne nævnes Karbolsyre (jvfr. Meddelelser pag. 177), Kreosot, Chloroform (Müntz), eddikesur Lerjord, ætherisk Sennepsolie, Kanelolie, Xylol og Thymol.

Det sidstnævnte Stof er navnlig i fortrinlig Grad i Besiddelse af de omtalte Egenskaber, idet der kun behøves overordentlig lidt deraf, for at udelukke Gjæring af enhver Art, medens selv forholdsvis store Kvantiteter ere uden kjendelig Indvirkning paa Diastase og Invertin. Naar man derfor til den foreliggende Opløsning sætter en ringe Mængde Thymol og derefter vel udvasket Gjær, vil denne med sædvanlig Energi omdanne Rørsukkeret til Invertsukker, men dermed vil Virkningen være forbi, dette omdannes ikke videre, og vi have altsaa her opnaaet det samme med Gjær, som med det isolerede Ferment, hvad der gjør Methoden en Del mere praktisk anvendelig. Jeg har i Almindelighed opløst 1 Grm. Thymol i 100 Kub. Centimeter Vinaand paa 93 % og heraf tilsat 1—2 Kub. Cent. til 50 Kub. Cent. Analyse og derefter 2 Kub. Cent. tyndflydende Gjær (med 6—8 % Tørstof), der ved gjentagne Sigtninger og Slemninger var renset fuldstændig for vedhængende Urt; der viste sig da aldrig det mindste Tegn til nogen Gjæring. Opløsningen suppleres, ligesom den foregaaende, til 100 Kub. Centimeter og maa i dette Tilfælde selvfølgelig altid filtreres; den lille Unøjagtighed, at man ikke tager Hensyn til det Rumfang, som indtages af Gjæren, har ved den ringe Mængde, man tilsætter heraf, ingen kjendelig Indflydelse. Ligesom ved Arbejdet med Invertinopløsningen, lader man ogsaa her Hovedprøven ledsages af et parallelt Forsøg, hvor man tager Gjær, som i Forvejen har været opvarmet til 100°; denne Prøve maa da efter endt Behandling ikke være undergaaet nogen Forandring. Ligesom i det foran anførte Forsøg, give her Differenserne mellem Drejning og Reduktion i Prøverne med »aktiv« og »passiv« Gjær (eller den oprindelige Opløsning) os de fornødne Data til Beregning af Rørsukkermængden. Da Opløsningen imidlertid ofte selv indeholder inverterende eller diastatiske Fermenter (f. Ex. Maltudtræk), maa man altid før Undersøgelsen opvarme den et Øjeblik til 100°. Til yderligere Betryggelse kunde man endelig endnu medtage to Prøver med ligesaameget Gjær, som i de to foregaaende, den ene aktiv, den anden passiv, men med 50 Kub. Centimeter destilleret Vand istedetfor Sukkeropløsning, og lade disse gjennemgaa samme Behandling som Hovedprøverne. Disse Prøver maa da hverken udvise nogen Drejning eller Reduktion[1]).

---

[1]) Ved Behandling af Gjær med ringe Mængder Vand kan man vel, selv om Gjæren er vel renset, faa et Udtræk, som viser en ringe Drejningsevne, navnlig er dette Tilfældet med den »kogte« Gjær. Ved de store Vandmængder i Forhold til Gjæren, som anvendes i



De nævnte Egenskaber hos Thymolet finde forøvrigt mangfoldig Anvendelse ved lignende Undersøgelser. Istedetfor saaledes at opbevare den i »Meddelelser« pag. 149 omtalte Forsøgsvædske nedpakket i Is, kan man give den en ringe Tilsætning af Thymol (1 Grm. opløst i 50 Kub. Centimeter Vinaand til 1 Litre.) Dette hindrer ikke Diastasen fra at paavirke Opløsningen og gjør den holdbar ved almindelig Temperatur, rimeligvis i ubegrændset Tid.

Naar man paa denne Maade skal undersøge Planteudtræk, ville disse i Almindelighed være for stærkt farvede, til at de direkte kunne polariseres. Man maa da affarve dem, ved i 100 Kub. Centimeter-Kolben, før man fylder op til Mærket, at tilsætte en ringe Mængde basisk eddikesurt Blyilte; ved et foreløbigt Forsøg maa man da først søge at udfinde den mindste Mængde af dette Reagens, der er tilstrækkelig til at frembringe den ønskede Affarvning; ved et Overskud af Blyopløsningen filtrerer Vædsken nemlig kun yderst vanskeligt og sjælden ganske klar. Hertil kommer, at større Mængder Blyopløsning fremkalde en stærk Forandring af Invertsukkerets Drejningsevne, som paavist af Haughton Gill (Journal of the Chemical Society, Bd. 9 pag. 85). H. G. fortyndede 15 Kub. Centimeter Invertsukkeropløsning med Vand til 50 Kub. Cent., den viste da en Drejning $\alpha = -10{,}96^0$, erstattedes 2 Kub. Cent. Vand med 2 Kub. Cent. stærk Blyeddike, gav den kun $\alpha = -9{,}59^0$, medens man endelig, ved at ombytte alle 35 Kub. Cent. Vand med Blyeddike, fik $\alpha = +22{,}12^0$. Det synes altsaa, som om der dannes en Blyforbindelse af Lævuloset, hvori dette har samme Drejningsevne som Dextroset. Man vilde i dette Forhold have en ypperlig Methode til Paavisning og Bestemmelse af Invertsukker eller rettere af Lævulose, en Methode, der vilde være brugelig selv ved smaa Mængder paa Grund af den overordentlige Forandring i den specifiske Drejning (henved 150^0), hvis ikke uheldigvis Blyopløsningen ogsaa indvirkede forandrende paa Drejningsevnen af andre Sukkerarter. F. Ex. en Maltoseopløsning viste efter Fortynding af 10 Kub. Centimeter med 15 Kub. Cent. Vand en Drejning $\alpha = 5{,}46^0$; blandedes den med 15 Kub. Cent. stærk Blyopløsning istedetfor med Vand, viste den kun $\alpha = 4{,}82^0$ strax efter Blandingen og den følgende Dag $\alpha = 4{,}65^0$. Denne Forandring synes ogsaa at skyldes Dannelsen af en Blyforbindelse, hvori

---

Forsøgene, bliver den Korrektion, som skulde indføres herfor, dog næsten altid forsvindende. For at gjøre Parallelismen mellem de to Hovedprøver fuldstændig, kan man efter endt Inversion opvarme Flasken med den »aktive« Gjær til 100^0, forinden man nedsvaler og fylder op til 100 Kub. Centimeter.

Maltoset indgaar med en anden Drejningsevne, og ikke en Dekomposition af Sukkeret; thi gjorde man Opløsningen sur med Svovlsyre, viste den, selv naar dette først skete 24 Timer efter Tilsætning af Blyopløsningen, en Drejning $\alpha = 5{,}42^{0}$, altsaa den oprindelige. Ved Invertsukker kommer man heller ikke til konstante Tal for den specifiske Drejning og naar ikke den samme som for Dextroset, $(\alpha)_D = 53^0$; en Invertsukkeropløsning viste $(\alpha)_D = -21{,}1^0$ ved 20^0 C.; ved Tilsætning af $^1/_5$ Rumfang Blyopløsning blev $(\alpha)_{D^{20^0}} = -16^0$, ved 4 Rumfang blev den $= +36^0$, ved 10 Rumfang $+ 42^0$, alt, naar Polarisationen foretoges strax efter Blandingen; ved Henstand aftog Drejningen temmelig hurtigt.

Ved nogen Tids Henstand med større Mængder Blyopløsning farvedes disse Sukkeropløsninger paa en karakteristisk Maade; medens Dextrose- og Invertsukkeropløsningerne antoge en gulbrun Farve, bleve Maltoseopløsninger prægtig rosafarvede; Rørsukkeropløsninger forbleve derimod ufarvede, ligesom heller ikke Drejningsevnen her led nogen Forandring[1]). Særdeles ejendommeligt ved denne Farvning er det dernæst, at Opløsningen ved Rystning øjeblikkelig bliver ufarvet, uden at der samtidig udskiller sig noget Bundfald; ved Henstand kommer Farven igjen, for paany at forsvinde ved Omrystning, og dette kan gjentages mange Gange. Naar Opløsningen gjøres sur, forsvinder Farven ligeledes. Denne Affarvning var navnlig fuldstændig, naar Omrystningen skete ikke for længe efter Tilsætning af Blyopløsningen. Senere blev der en bestandig stærkere gullig Farvetone tilbage, som rimeligvis skyldtes Indvirkningen af den alkaliske Opløsning paa Sukkeret. Denne Farvning kan bruges som en karakteristisk Reaktion for de nævnte Sukkerarter, naar disse ikke ere blandede med hverandre.

Af det fremsatte følger, at man, hvor der er brugt basisk eddikesurt Blyilte til Affarvning, kun tør benytte Opløsningen direkte til Polarisation, hvor Blyopløsningen er tilsat i forsvindende ringe Overskud. Er dette ikke Tilfældet, maa man forinden fjærne Blyet af Opløsningen, hvad der kan ske ved Hjælp af Svovlsyrlingvand efter Haughton Gills Forslag; man kan forøvrigt ogsaa bruge meget fortyndet Svovlsyre, naar man kun ikke tilsætter mere deraf end nødvendigt og foretager Polarisationen strax efter at man har filtreret.

For at give et Exempel paa Bestemmelse af Rørsukker i en kompliceret Blanding af Kulhydrater, skal anføres følgende her i Laboratoriet anstillede Forsøg:

---

[1]) Jvfr. Schmidt, Fresenius Zeitschrift, 1862, pag. 96.

Der blev tilberedt en Opløsning, som i 100 Kub. Centimeter indeholdt følgende Mængder af nedenstaaende Stoffer:

Maltose	5	Grm.
Dextrose	5	»
Invertsukker	5	»
Dextrin[1])	5	»
Inulin	1	»
Rørsukker	1	»

Opløsningen viste i Polarimetret $\alpha_{20^0} = 18{,}04^0$, S = 13,47 %. Efter Behandling med Invertin var $\alpha'_{20^0} = 17{,}18^0$, S' = 14,62 %, $\alpha - \alpha' = 0{,}86^0$ giver 0,96 % Rørsukker, S' — S = 1,11 % giver 1,11 : 1,05 = 1,06 % Rørsukker, et Resultat og en Overensstemmelse mellem de to Bestemmelser, der maa kaldes overmaade tilfredsstillende, naar man tager Hensyn til den ringe Mængde, hvori Rørsukkeret i denne Blanding var tilstede i Sammenligning med de andre Bestanddele. Det er klart, at man neppe ved almindelige kemiske Midler vilde være istand til at bestemme Rørsukker kvantitativt i en Blanding af denne Beskaffenhed, næppe nok til at paavise dets Tilstedeværelse.

Da Invertsukkerets Drejningsevne forandrer sig betydeligt med Temperaturen, maa man tage tilbørligt Hensyn til denne ved Observationerne. Sikrest er det at foretage disse i et Rør, der med Undtagelse af de yderste Ender er helt omgivet af et videre Metalrør. Fra dette udgaa to smaa Siderør; gjennem det ene af disse strømmer der fra en højere stillet Beholder bestandig Vand af en konstant Temperatur til, som omskyller Iagttagelsesrøret og meddeler Vædsken i dette den samme Temperatur, for derefter gjennem det andet Siderør at løbe bort til et Kar, hvori der ligeledes er anbragt et Thermometer. Som Normaltemperatur vælger man i Almindelighed 20° C. Simplere og næsten ligesaa nøjagtigt er det strax efter Observationen at skrue det ene Dækglas fra og stikke et tyndt Thermometer ned i Røret og saaledes aflæse Vædskens Temperatur; man erindre da blot ikke at fatte med Haanden om Røret for ikke at opvarme det. Man angiver da Drejningsvinklen og den tilsvarende Temperatur; for Sammenligningas Skyld er det dog bedst altid at reducere Iagttagelserne til 20°. Tuchschmid angiver Invertsukkerets specifiske Drejning til $(\alpha)_D = -(27{,}9 -$

---

[1]) Dextrinet var ikke frit for Maltose. Det havde en specifisk Drejning $(\alpha)_D = 188^0$ og en Reduktionsevne R = 9, indeholdt altsaa efter O'Sullivan omtrent 15 % Maltose.

$0{,}_{32}$ t)^0, hvor t er Temperaturen. Heraf findes Invertsukkerets specifiske Drejning

ved	14^0 C,	$(\alpha)_D$	$= -23{,}_4{}^0$	ved	21^0 C,	$(\alpha)_D$	$= -21{,}_2{}^0$
»	15^0 »	»	$= -23{,}_1{}^0$	»	22^0 »	»	$= -20{,}_9{}^0$
»	16^0 »	»	$= -22{,}_8{}^0$	»	23^0 »	»	$= -20{,}_5{}^0$
»	17^0 »	»	$= -22{,}_5{}^0$	»	24^0 »	»	$= -20{,}_2{}^0$
»	18^0 »	»	$= -22{,}_1{}^0$	»	25^0 »	»	$= -19{,}_9{}^0$
»	19^0 »	»	$= -21{,}_8{}^0$	»	26^0 »	»	$= -19{,}_6{}^0$
»	20^0 »	»	$= -21{,}_5{}^0$				

For at reducere en ved t^0 aflæst Drejning til 20^0 skal man altsaa multiplicere

for	$t = 14^0$ C	med	$0{,}_{92}$	for	$t = 21^0$ C	med	$1{,}_{01}$
»	$t = 15^0$ »	—	$0{,}_{93}$	»	$t = 22^0$ »	—	$1{,}_{03}$
»	$t = 16^0$ »	—	$0{,}_{94}$	»	$t = 23^0$ »	—	$1{,}_{05}$
»	$t = 17^0$ »	—	$0{,}_{96}$	»	$t = 24^0$ »	—	$1{,}_{06}$
»	$t = 18^0$ »	—	$0{,}_{97}$	»	$t = 25^0$ »	—	$1{,}_{08}$
»	$t = 19^0$ »	—	$0{,}_{99}$	»	$t = 26^0$ »	—	$1{,}_{10}$
»	$t = 20^0$ »	—	$1{,}_{00}$				

I de foranstaaende Analyser maa man altsaa nøje bestemme Temperaturen, hvorved α og α' aflæses, og derpaa multiplicere $\alpha - \alpha'$ med den tilsvarende Reduktionsfaktor.

Det er sandsynligt, at Invertinmethoden ogsaa lader sig benytte som mikrokemisk Reagens for Rørsukker, hvor dette ikke forekommer blandet med reducerende Sukkerarter. Jeg maa i den Anledning kortelig erindre om den nu brugelige mikrokemiske Reaktion for Sukker. Efter Sachs lader man Snittene i en efter Omstændighederne kortere eller længere Tid ligge i en koncentreret Opløsning af svovlsurt Kobberilte, skyller dem derpaa med en større Mængde Vand for at fjærne Overskudet af Kobberopløsningen og bringer dem nu ned i en stærk Opløsning af Kalihydrat, som man har opvarmet til Koghede i en lille Porcellainsskaal. Ved Tilstedeværelse af Sukker antage Snittene nu en højrød Farve af det udskilte Kobberforilte. For at undgaa den Ulæmpe, som indtræder, naar Kobberopløsningen er traadt ind i Cellen i Overskud, hvorved Præparatet farves sort af Kobbertveilte, og Reaktionen naturligvis bliver ubrugelig, kan man efter Pfeffers Forslag blande Kaliopløsningen med en Seignettesaltopløsning ligesom til Fehlings Vædske. Medens denne Prøve for Druesukkerets (og Maltosets) Vedkommende giver gode Resultater, er den kun lidet tjenlig til Paavisning af Rørsukker. Reaktionen for dette Stof grunder sig alene paa, at det forhindrer Fældningen af Kobberilte ved Kali, og at Snittene

derfor, naar de behandles efter Sachs's Forskrift, antage en dyb blaa Farve ved at bringes ned i Kalioplosningen. Da imidlertid mange andre organiske Stoffer, der staa Rørsukkeret mer eller mindre fjærnt, have den samme Evne til at forhindre Kobberiltets Fældning (Dextrin, Vinsyre o. s. v.), vil man aldeles ikke kunne drage nogen sikker Slutning om Tilstedeværelsen af Rørsukker fra Fremkomsten af en slig blaa Farve. Hertil kommer, at andre Stoffer give andre Farvereaktioner ved Behandling med de samme Reagenser, Proteïnstoffer f. Ex. en blaaviolet Farve; i en Blanding af Rørsukker med større Mængder af slige Stoffer, vil det derfor være ganske umuligt at iagttage Fremkomsten af den for Rørsukker ejendommelige Farvetone.

Ved Hjælp af Invertin kan Paavisningen tænkes foretaget paa følgende Maade: Snittene lægges i en Porcellainsskaal med en stærk Opløsning af Invertin, hvortil hensigtsmæssigt sættes noget Thymoloplosning. Heri lader man dem ligge i en eller flere Timer, i hvilken Tid Skaalen hensættes ved en Temperatur, der er gunstig for Fermentets Virkning (40—50°). Snittene skylles derefter i Vand og behandles videre efter Sachs's eller bedre efter Pfeffers Methode. Tilstedeværende Rørsukker vil ved Invertinet være bleven overført til reducerende Sukker og derfor ved Behandling med svovlsurt Kobberilte og Kali give den karakteristiske røde Farvning af Snittene. Reaktionen vil i Sikkerhed næppe staa tilbage for nogen anden mikrokemisk Methode; kun Synanthrose vil gjøre Resultatet usikkert. At Reaktionen ikke vil kunne bruges, hvor Rørsukker og reducerende Sukker forekomme i de samme Celler, er indlysende; men dette er i hvert Tilfælde heller ikke muligt ved den ældre Methode.

Allerede for 6 Aar siden har Kühnemann paavist Tilstedeværelsen af Rørsukker i Byg og Malt. Kühnemann udtrækker sit Materiale med Vinaand i Kulden, blander Udtrækket med 2 Vægtdele Æther og ryster nu denne Æther-Vinaandblanding med Vand i Forholdet 6 : 1,6; Vædsken skiller sig da ved Henstand i 2 Lag, hvoraf det vandige indeholder Sukkeret, medens Fedtstoffer o. s. v. blive tilbage i Æther-Vinaanden. Efter at have fraskilt den vandige Opløsning, gjøres denne svagt alkalisk med Barytvand, Vinaand og Æther afdestilleres paa Vandbad, og Overskudet af Baryt fjærnes med Kulsyre. Den herved erholdte Opløsning indeholder da Rørsukkeret i uforandret Tilstand, medens man ved Udtrækning paa sædvanlig Maade faar største Delen deraf omdannet; efter Kühne-

manns Mening er dette en Følge af de svage Syrers Indvirkning, som findes i Maltet (eller Bygget). Den samme Aarsag tilskriver han ogsaa, at Rørsukkeret i Maltet er ledsaget af reducerende Sukker, som han ikke finder i Bygget, idet de nævnte Syrer under selve Maltningsprocessen, begunstigede af den herved herskende højere Temperatur og Fugtigheden, skulde virke inverterende paa Rørsukkeret. Hvad angaar Mængden af Rørsukker i spiret Byg, da har Kühnemann fundet 0,6 %, undertiden noget mere. I Byg finder han noget mindre, men tilskriver dette Tabet af Ikke-Sukker under Spiringen, der vil bevirke, at den samme absolute Mængde Sukker vil komme til at udgjøre en større procentisk Mængde i Maltet; han antager ogsaa, at Sukkeret vanskeligere lader sig udtrække fuldstændigt af Byg end af Malt. Han lover i den nævnte Afhandling senere at ville bestemme Sukkeret kvantitativt, men har, saavidt mig bekjendt, ikke endnu meddelt Undersøgelser i denne Retning.

Jeg har nu benyttet den ovenfor fremstillede Methode for Rørsukkerbestemmelse til Undersøgelse af dette Stofs Forekomst i Byg og Malt og har derved i Overensstemmelse med Kühnemann kunnet konstatere dets Tilstedeværelse paa begge Steder, men tillige kunnet gjøre den paafaldende Iagttagelse, at det forekommer i langt rigeligere Mængde i Maltet end i Bygget. Forskjellen i det procentiske Indhold er saa stor, at det omtalte Svind under Maltningen (8—12 %) langtfra slaar til for at forklare den, hvoraf altsaa fremgaar, at der under selve Spiringsprocessen foregaar en livlig Nydannelse af dette Stof. Paa den anden Side er det ogsaa utvivlsomt, at Rørsukkeret spaltes i Dextrose og Lævulose under Spiringen; dette skyldes imidlertid ikke Indvirkningen af Syrerne i Maltet, — i den Fortynding og ved denne Temperatur ere hine svage organiske Syrer uden al Indvirkning paa Rørsukker, — men derimod et ejendommeligt inverterende Ferment, som Hor. Brown har paavist i Udtrækket af Malt, og hvorom nedenfor skal blive meddelt nærmere.

Til Bekræftelse af den anførte Paastand, at Syrerne i Maltet næppe spille nogen direkte Rolle ved Rørsukkerets Inversion (en indirekte Rolle kunne de vel have, idet de understøtte Virkningen af Fermentet), kunne følgende Forsøg anføres. En Række Flasker henstilledes i et Døgn ved 20—22°; i hver Flaske fandtes 25 Kub. Centimeter Rørsukkeropløsning paa omtrent 10 % og 25 Kub. Cent. Vand, der indeholdt vexlende Mængder af forskjellige Syrer. Efter Forløbet af den nævnte Tid bestemte man Blandingens Drejning og Reduktion og beregnede deraf den stedfundne Inversion.

					α	Inverteret Rørsukker
25 Kb.Ct. Rørsukkeropl.	+25 Kb. Ct.	normal Svovlsyre	—		$\div 0{,}11^0$	79 %
» — —	+10	—	—	—	$+ 1{,}46^0$	43 »
» — —	+ 2	—	—	—	$+ 2{,}86^0$	11 »
» — —	+ 0	—	—	—	$+ 3{,}35^0$	0 »
» — —	+25	—	dobbelt normal Eddikesyre	—	$+ 3{,}28^0$	1,5 »
» — —	+10	—	—	—	$+ 3{,}35^0$	0 »

Det vil heraf ses, at medens Svovlsyren virkede ret kraftigt inverterende, forblev Rørsukkeropløsningen saa godt som uforandret i Berøring med Eddikesyre, selv naar denne var tilstede i forholdsvis meget anselig Mængde. Lignende Resultater gave Smørsyre og Mælkesyre. Sammenligne vi de her anvendte Mængder af Eddikesyre med de Mængder af denne eller lignende Syrer, der kunne optræde under Maltningen, synes det utvivlsomt, at disse aldeles ikke kunne tjene til at forklare Rørsukkerets Inversion under denne Proces.

Mine første Forsøg over Rørsukkerets Forekomst anstillede jeg ligesom Kühnemann med kølletørret Malt. Ved Behandling med koldt Vand (omtrent 4 Dele) afgiver det hertil 18—20 % opløselige Stoffer. Opløsningens Reduktionsevne er gjennemsnitlig R = 38. Ved Invertinmethoden fandtes 10—15 % af Extraktet at bestaa af Rørsukker, hvilket giver 2 % og derover af Maltet, altsaa betydeligt mere, end Kühnemann har fundet ved sin Udtrækningsmaade. Som Exempel paa en slig Analyse hensættes følgende:

1. Maltudtrækket indeholdt efter Kogning 7,74 % Tørstof; $\alpha = 2{,}62^0$, $S = 2{,}84$ %.

Til 100 Kub. Centimeter satte man 2 Kub. Cent. Thymol + 5 Kub. Cent. Gjær, henstillede 24 Timer ved 52°, tilsatte 4 Kub. Cent. basisk eddikesurt Blyilte, fyldte op til 130 Kub. Cent. og filtrerede. En aldeles tilsvarende Prøve toges med passiv Gjær. De to klare, næsten ufarvede Opløsninger gave nu følgende Værdier for Drejning og Reduktion:

Prøven med aktiv Gjær $\alpha'_{20^0} = 1{,}60^0$, $S' = 4{,}04$ %,
» » passiv » $\alpha_{20^0} = 2{,}62^0$, $S = 2{,}78$ %.

$\alpha - \alpha' = 1{,}02^0$ giver $\frac{1{,}02}{0{,}89} = 1{,}15$ % Rørsukker,

$S' - S = 1{,}26$ % giver $\frac{1{,}26}{1{,}05} = 1{,}20$ % —

Middeltal — 1,17 % eller omtrent 15 % af Tørstoffet.

2. Maltudtrækket viste $6,_{15}$ % Tørstof; $\alpha = 1,_{97}^0$, $S = 2,_{46}$ %. Behandlingen med Invertin o. s. v. ligesom i det foregaaende Exempel:

Prøven med aktiv Gjær $\alpha'_{20^0} = 1,_{29}^0$, $S' = 3,_{21}$ %,
» » passiv » $\alpha_{20^0} = 1,_{95}^0$, $S = 2,_{45}$ »
$\alpha - \alpha' = 0,_{66}^0$ giver $0,_{74}$ % Rørsukker,
$S' - S = 0,_{76}$ % » $0,_{72}$ » —
Middeltal $0,_{73}$ % eller omtrent 12 % af Tørstoffet.

Af slige Analyser har jeg udført mange uden nogensinde at have bemærket Afvigelser mellem de Resultater, som den optiske og den kemiske Prøve gave, der overskrede den, som findes i det første af de her anførte Exempler.

Da Rørsukkeret er saa let foranderligt, laa det nær at antage, at det delvis kunde være bleven inverteret ved Behandlingen paa Køllen, navnlig kunde man formode, at de nævnte svage Syrer, der ingen Indflydelse havde ved selve Maltningen, kunde omdanne Rørsukkeret efter en større Maalestok ved den høje Varmegrad, som hersker under Tørringen. I den Tro altsaa at finde større Mængder Rørsukker i Grønmaltet underkastede jeg nogle Prøver heraf en Udtrækning med Vand og en Behandling med Thymol og Gjær ganske som i de ovenstaaende Analyser. Her viste sig imidlertid den mærkelige Omstændighed, at Udtrækket af Grønmalt intet eller kun meget lidet Rørsukker indeholdt; baade Drejning og Reduktion vare omtrent ens i Prøverne med aktiv og med passiv Gjær. Endvidere afviger Grønmalt fra Køllemalt deri, at det første afgiver en langt større Mængde opløselige Stoffer til Vand, nemlig gjennemsnitlig henved 24 %[1]); endvidere er Reduktionsevnen af Grønmaltudtrækket meget stærkere, nemlig henved 50.

Exempel:

Grønmaltudtrækket indeholdt $7,_{85}$ % Tørstof.
$\alpha = 2,_{79}^0$, $S = 3,_{53}$ %.

Prøven med aktiv Gjær $\alpha' = 2,_{68}^0$, $S' = 3,_{65}$ %,
» » passiv » $\alpha = 2,_{75}^0$, $S = 3,_{53}$ »
$\alpha - \alpha' = 0,_{07}^0$ giver $0,_{08}$ % Rørsukker,
$S' - S = 0,_{12}$ % » $0,_{11}$ » —
Middeltal $0,_{09}$ % eller omtrent 1 % af Tørstoffet.

[1]) Er a Grm. tørt Malt, b Grm. Vand (det tilsatte + Fugtigheden i Maltet), p Procent Tørstof i det erholdte Udtræk, saa er Mængden af opløselige Stoffer i Maltet $E = \frac{100\,b\,p}{a\,(100-p)}$.

Underkaster man derimod Maltet en endnu skarpere Tørring, end det alt har faaet paa Køllen, opvarmer det f. Ex. i 24 Timer til 100°, vil man ved Udtrækningen faa et noget mindre Udbytte af opløselige Stoffer (16—18 %) end af almindelig Køllemalt, men en forholdsvis større Mængde uforandret Rørsukker (omtrent 20 % af de opløselige Stoffer eller 3—3½ % af Maltet), medens Mængden af reducerende Sukker er aftaget (R = 25 % eller 4 % af Maltet).

Dette viser tilstrækkelig klart, at det ikke er Varmen ved Tørringen, der bevirker Omdannelsen af Rørsukkeret, men at vi her paany staa overfor Virkningen af et Ferment, der fremkalder Inverteringen. Dette Ferment, som allerede maa antages at være i Virksomhed i Maltet under Spiringen, kommer ved Udtrækningen af Grønmaltet med større Mængder Vand under særdeles gunstige Betingelser for sin Virkning, hvorfor det er i Stand til i den forholdsvis korte Tid, hvori Udtrækningen staar paa (6—12 Timer), at omdanne alt Rørsukkeret til Invertsukker. I Køllemaltet har det derimod ved Varmens Indflydelse tabt største Delen af sin Kraft, og i det endnu stærkere tørrede Malt er dets Virkning næsten ganske udslukket. I Virkeligheden har det ved Forsøg, som vi have anstillet med det diastatiske Ferment, vist sig, at Tilstedeværelsen af rigelig Fugtighed ikke er en nødvendig Betingelse for Tilintetgjørelsen af Fermentevnen ved Varme. Tabellen i »Meddelelser« pag. 163 viser, at selv efter at Vandet paa 5 % nær var fjærnet af Maltet, sank Fermentevnen ved 15 Timers yderligere Henliggen paa den nederste Kølleflage fra 155 til 100. Senere har Hr. Assistent Weis her i Laboratoriet anstillet Forsøg over Indflydelsen af yderligere Tørring paa Fermentevnen og fundet, at denne blev næsten ganske tilintetgjort ved at henstille Køllemalt i 24 Timer ved 100°.

Det blev altsaa Hovedopgaven at foretage Udtrækningen paa en saadan Maade, at al Fermentvirkning holdes borte; dette gjælder ikke blot ved Undersøgelsen af Malt, men ligesaavel ved Byg, og det turde overhovedet udstrækkes til de fleste Planteanalyser, da Fermenter af denne og lignende Art ere meget udbredte i Planteriget og ingenlunde ganske savnes i de hvilende Organer; man erindre f. Ex. Th. Weyl og Bischoffs Undersøgelser over Gluten, der efter disse Iagttageres Mening ikke forekommer færdigdannet i Hveden, men først dannes ved en Fermentvirkning ved Udtrækningen af Melet med Vand under Indvirkning af et Stof, som de jævnføre med det »fibrinoplastiske« Stof i Blodet. Naar der blev draget Omsorg for at holde Fermentvirkningen borte under Ud-

trækningen (her ved at tage en 15 % Chlornatriumopløsning istedetfor Vand), fik man intet Gluten.

Jeg maa her gjøre en Bemærkning om de to Klasser af Fermenter, de opløselige og de uopløselige, hvoraf der i »Meddelelser« pag. 107—114 er givet en kort Karakteristik. Som her fremhævet, findes der mellem de to Grupper vigtige og dybtgaaende Forskjelligheder; med Hensyn til Opløseligheden synes dog Overgangen imellem dem at være mere jævn. Alkoholgjæringsfermentet er aldeles uopløseligt, Udtrækket af Gjærcellen er, hvorledes det end tilberedes, aldeles blottet for Gjæringsevne. Invertinet er vel opløseligt, men kan dog kun meget ufuldstændigt fjærnes fra Gjæren, idet Udtrækket deraf kun inverterer svagt i Sammenligning med selve Cellen. Diastasen endelig er vel let opløselig, idet Udtrækket af Malt virker meget kraftigt paa Stivelse; imidlertid er det ikke muligt ganske at fjærne den diastatiske Evne af Maltet, selv ved nok saa lang Udvaskning med Vand. Udvaskede man saaledes fint pulveriseret Malt med store Mængder Vand, naaede man snart et Punkt, hvor dette tilsyneladende ikke optog flere opløselige Stoffer og navnlig aldeles ingen Reaktion gav for Sukker. Lukkede man nu Tragten forneden og heldte Vand paa igjen, vil dette, naar man efter nogle Timers Forløb paany lod det løbe af, indeholde meget kjendelige Sukkermængder, et Bevis paa, at det stærkt udvandede Malt endnu har indeholdt et Ferment, der var istand til at omdanne dets Stivelse. Hvad nu det inverterende Ferment angaar, synes dette ligesom Gjærens Invertin kun højst ufuldstændigt at gaa over i Vandudtrækket. Brown har, som tidligere nævnt, paavist en inverterende Virkning hos dette Udtræk, der dog i Sammenligning med dets diastatiske Evne var temmelig svag, hvorimod Udtrækningsforsøgene med Grønmalt have vist en meget hurtig og energisk Inversion af det i Maltet tilstedeværende Rørsukker. Endvidere synes det, som om denne til selve Plantecellen knyttede Fermentevne ikke er saa følsom overfor antiseptiske Midler som Udtrækket.

For at standse Fermentvirkningen under Udtrækningen tilbyder der sig to Veje, den ene Udtrækning med antiseptiske Stoffer, den anden Tilintetgjørelsen af Fermentevnen ved Opvarming. Angaaende den første Methode har det vist sig, at man kun naar Maalet ved at benytte sig af de aller kraftigste Antiseptika i en forholdsvis koncentreret Tilstand. Endvidere maa man stille den Fordring til de anvendte Udtrækningsmidler, at de ikke virke forandrende paa de opløselige Stoffer i Maltet, idetmindste ikke paa Kulhydraterne,

som her særlig interessere os; endelig at de let lade sig fjærne fuldstændig af Opløsningen, uden at denne heller ved denne Proces lider nogen Forandring. Ved disse forskjellige Betingelser indskrænkes man stærkt i Valget; af alle Antiseptika ere Kviksølvsalte de kraftigste; ved Behandling med en 1 Procents Opløsning af Sublimat eller eddikesurt Kviksølvtveilte vil man saaledes kunne være sikker paa kun at faa de direkt opløselige Stoffer i Udtrækket. Ligeledes opfylde Kviksølvsaltene den anden Betingelse at udtrække Kulhydraterne uforandrede, om end nogle Protëinstoffer, som ellers vilde gaa i Opløsning, kunne fældes derved. Derimod er det vanskeligt at fjærne Saltet af Opløsningen uden at faa Sukkerarterne omdannede. Ved Anvendelse af Sublimat kan dette ske ved at fælde Kviksølvet med Svovlbrinte og ryste Opløsningen med kulsurt Sølvilte, saalænge indtil Svovlbrinte og Chlorbrinte ere gaaede over til Svovlsølv og Chlorsølv, hvorefter Opløsningen varmes, man filtrerer og udvasker, en Række Operationer, der dog ere meget besværlige. Ved eddikesurt Kviksølvtveilte maa man efter Fældning med Svovlbrinte søge at fjærne denne ved ganske svag Opvarming, neutralisere et vist Rumfang af Filtratet med normal Natronlud og indføre en Korrektion i Tørstofbestemmelsen for den nu bekjendte Mængde eddikesurt Natron, en Methode, der dog just næppe er skikket til at give nøjagtige Resultater.

Et andet yderst kraftigt Antiseptikum er Svovlsyrlingvand, der ofte er bleven anvendt som Udtrækningsmiddel, og da i Regelen af en Styrke som 1 Del mættet Svovlsyrlingvand + 4 Dele destilleret Vand. Det har vist sig, at Rørsukker ikke kjendelig inverteres ved Henstand i 12 Timer med Svovlsyrlingvand af denne Styrke (jvfr. ogsaa Haughton Gill, Journal of the Chemical Society, Bd. 9, pag. 85). Svovlsyrlingen kan let fjærnes med Barytvand, hvoraf Overskudet atter fjærnes med Kulsyre. Til 100 Grm. Svovlsyrling-Udtræk satte man saaledes 50 Kub. Cent. Barytvand og destilleret Vand, indtil man havde 200 Grm., der ledes Kulsyre til, Vædsken kogtes, og efter Afkjøling bragte man ved Tilsætning af destilleret Vand Vægten atter op til 200 Grm.; de fundne Tørstofprocenter blive da at fordoble.

Naar Udtrækningen af Grønmalt foretoges paa denne Maade, fik man et ganske andet Resultat end ved Behandling med Vand alene. Der blev nemlig nu kun opløst 15—16 % af Maltets Tørstofmængde, heraf var atter kun 20—25 % (eller henved 4 % af Maltet) reducerende Sukker. Derimod var Udtrækket meget rigt paa uforandret Rørsukker, som følgende Analyse viser:

Udtrækket indeholdt 4,48 % Tørstof, hvilket svarer til 15,3 % opløselige Stoffer i Maltet.

$\alpha = 1{,}47^0$, $S = 0{,}81$ %.

Til 60 Kub. Centimeter satte man 2 Kub. Cent. Thymol + 4 Kub. Cent. Gjær, henstillede i 24 Timer ved 52°, tilsatte 2 Kub. Cent. basisk eddikesurt Blyilte, fyldte op til 100 Kub. Cent. og filtrerede. Parallelforsøg med passiv Gjær.

Prøve med aktiv Gjær $\alpha'_2{}^0 = 0{,}27^0$ $S' = 2{,}29$ %

— - passiv — $\alpha_{20}{}^0 = 1{,}50^0$ $S = 0{,}81$ %.

$\alpha - \alpha' = 1{,}23^0$ giver 1,37 % Rørsukker

$S' - S = 1{,}48$ % - 1,41 % —

Middeltal — 1,39 % Rørsukker,

hvilket er 31 % af Extraktet eller 4,7 % af Maltet.

Byg gav ved Udtrækning paa lignende Maade 5,5 % Extrakt og 1,1 % Rørsukker, men kun et ubetydeligt Spor af reducerende Sukker; ved Behandling med almindeligt Vand afgaves 8,0 % opløselige Stoffer og kun 0,7 % uforandret Rørsukker, hvorimod Mængden af reducerende Sukker var betydelig større. Det ses altsaa, at Rørsukkermængden er omtrent 3 Gange større i Grønmalt end i Byg; selv om man nu regner et Tab af 15 % Tørstof ved Maltningen, hvad det dog næppe nogensinde stiger til, vil Rørsukkermængden dog under Spiringen være stegen i Forholdet 1 : 2¼.

Det er, som sagt, nødvendigt at anvende temmelig stærkt Svovlsyrlingvand; ved stærkt fortyndet opnaar man saa langt fra at undertrykke Fermentvirkningen, at man endogsaa fremmer den. Nedenstaaende lille Tabel viser, hvormeget Extrakt og reducerende Sukker (S) man fik udtrukket af Grønmalt med Vand og Svovlsyrlingvand af forskjellig Styrke; Svovlsyrlingvand 1 : 50 betegner en Blanding af 1 Maal mættet Svovlsyrlingvand og 49 Maal destilleret Vand.

		Extrakt	Sukker
Vand		24,7	11,9
Svovlsyrlingvand	1 : 50	27,2	13,9
—	1 : 10	18,8	5,0
—	1 : 5	16,9	4,5
—	1 : 4	16,1	4,3
—	1 : 2	15,8	4,4
—	1 : 1	15,9	4,6

Som det vil ses, har Svovlsyrlingvand af Styrken 1 : 50 opløst kjendeligt mere baade Extrakt og Sukker end Vand alene, et Tegn paa, at Fermentvirkningen er foregaaet livligere. Bruge vi derimod

stærkere Svovlsyrlingvand, synke Mængderne af Extrakt og Sukker hurtigt, indtil de, naar man tager Svovlsyrlingvand af Styrken 1 : 5, naa et Minimum, hvorved de omtrent blive staaende ved Anvendelse af endnu større Mængder af det antiseptiske Stof, et Tegn til, at Fermentevnen er udslukket. Meget stærkt Svovlsyrlingvand virker noget inverterende paa Rørsukker, hvorfor »Sukkermængden« ved Anvendelsen af sligt paany stiger lidt.

Fortyndede Syrer høre i det hele til de kraftigste Antiseptika overfor mange Fermenter, og man opnaar derfor en lignende Virkning ved Udtrækning med meget fortyndet Svovlsyre, idet denne virker paa Fermentet ved saa stor Fortynding, at dets Virkning paa Rørsukker endnu ikke er stærkt fremtrædende. Følgende Tabel viser Resultaterne af Udtrækning af Grønmalt med Vand og Svovlsyre af forskjellig Styrke.

	Extrakt	Sukker
Vand	24,3	11,7
1/80 normal Svovlsyre	26,5	13,1
1/40 — —	27,1	14,4
1/20 — —	20,7	8,4
1/10 — —	20,0	5,3
1/2 — —	20,6	6,8

Det samme Forhold gjentager sig her, at Fermentet stimuleres af smaa Mængder Syre (1/80 normal og endnu mere 1/40 normal Svovlsyre), medens Virkningen ved større Mængder rask aftager. Man naar dog ikke her det samme Minimum som med Svovlsyrling, dels fordi Svovlsyren virker mindre kraftigt paa Fermentet end denne, dels fordi den inverterende Virkning af selve Syren her træder saa meget stærkere frem. Ret paafaldende bliver det dog unægteligt, at vi ved Udtrækning med fortyndet Svovlsyre faa Rørsukkeret for største Delen uforandret, medens det derimod inverteres ved Udtrækning med Vand.

Ved en Udtrækning af det samme Malt med en mættet Opløsning af Salicylsyre afgaves 25,5 % Extrakt og 12,2 % Sukker, der viste sig altsaa ligeledes en Forøgelse af Fermentvirkningen; dette synes at bekræfte den i »Meddelelser« pag. 177 udtalte Anskuelse, at Salicylsyrens Virkning paa de opløselige Fermenter nærmest skyldes dens Egenskab af Syre. Lignende Forhold udvise forøvrigt adskillige andre antiseptisk virkende Stoffer, f. Ex. Svovlsurt Kobberilte o. fl., idet de, anvendte i meget fortyndede Opløsninger, frembringe en forøget Opløsning af Extrakt og Sukker.

Et andet Middel til at modvirke den besværlige Fermentvirkning er at opvarme det indtørrede Materiale i nogen Tid til 100°

før Udtrækningen. Det gjælder da blot om at foretage Indtørringen paa en saadan Maade, at Fermentet ikke kan komme til at virke under denne, hvilket ikke er Tilfældet ved den almindelige Tørring paa Køllen, hvor der tvertimod i Begyndelsen, naar Temperaturen er under 50° og der endnu er rigelig Fugtighed tilstede, findes gunstige Betingelser for en Fermentvirkning.

Det tilsigtede opnaas derimod ved at overgyde de findelte, fugtige Korn med 3—4 Dele meget stærk Vinaand (98 %), inddampe Blandingen til fuldstændig Tørhed paa Vandbad og nu opvarme den saaledes indtørrede Masse i nogle Timer til 100°. Paa Grund af Vinaandens Tilstedeværelse har Fermentet ikke kunnet udøve nogen Virkning under Inddampningen og er nu fuldstændig tilintetgjort. Efter Afkjøling og Findeling udtrækker man nu med destilleret Vand. Denne Methode kræver en Del Vinaand, men er forøvrigt den, der oftest er bleven benyttet, da den er simpel og synes at yde størst Sikkerhed mod Omdannelser i Arbejdets Løb. Resultatet bliver det samme som ved Udtrækning med Svovlsyrlingvand: omtrent 16 % Extrakt, 4 % reducerende Sukker og 4—5 % uforandret Rørsukker.

Af det her fremsatte vil det være klart, at idetmindste en Del af det reducerende Sukker i almindeligt Maltudtræk er Invertsukker. Da Køllemalt indeholder 2 % Rørsukker, Grønmalt 4—5 %, maa der altsaa i det førstnævnte findes mindst 2—3 % Invertsukker. Under Brygningen vil vel i Regelen det endnu uforandrede Rørsukker omdannes fuldstændigt til Invertsukker, hvoraf altsaa Urtextraktet, ved et Udbytte paa 70 % af Maltet, gjennemsnitlig vil indeholde mindst $6^1/_2$ %. Ved Anvendelse af stærkt kølletørret Malt, hvis inverterende Ferment er i høj Grad svækket, kan dog lidt uforandret Rørsukker meget vel gaa over i Urten, saaledes som nedenstaaende Analyse viser:

Siposeurt.

Indeholdt 14,3 Grm. Tørstof i 100 Kub. Centimeter.

$\alpha = 15{,}67^0$, $S = 6{,}40$ %.

60 Kub. Cent. behandledes i 24 Timer ved 52° med 5 Kub. Cent. Gjær efter Tilsætning af 2 Kub. Cent. Thymol. Man tilsatte 2,5 Kub. Cent. basisk eddikesurt Blyilte, fyldte op til 100 Kub. Cent. og filtrerede.

Prøve med aktiv Gjær $\alpha'_{20^0} = 15{,}43^0$ $S' = 6{,}65$ %.

— - passiv — $\alpha_{20^0} = 15{,}68^0$ $S = 6{,}40$ %.

$\alpha - \alpha' = 0{,}25^0$ giver 0,28 % Rørsukker

$S' - S = 0{,}25$ % — 0,24 % —

Middeltal 0,26 % eller 1,8 % af Extraktet.

Det er klart, at naar der, som her, foreligger en Blanding af ganske lidt Rørsukker og store Mængder reducerende Sukker, vil man faa en nøjagtigere Bestemmelse af $\alpha - \alpha'$ end af S'—S. Thi hvad enten α er 20° eller 2°, vil en Nedgang paa f. Ex. en halv Grad lade sig aflæse med samme Nøjagtighed, hvorimod Reduktionen i stærke Opløsninger først lader sig bestemme efter stærk Fortynding, hvorved naturligvis den sandsynlige Fejl voxer i samme Forhold.

Ved Bestemmelser af Urtens Sukkermængde paa forskjellige Stadier af Gjæringen, som ofte er bleven foretaget her i Laboratoriet, har jeg af og til iagttaget, at Sukkermængden i Løbet af den første Dag i Gjæringskjælderen steg ganske lidt, hvad jeg dog dengang antog for stammende fra Iagttagelsesfejl, da Forskjellen var meget ringe, og en slig Forøgelse af Sukkermængden syntes utænkelig. Ved Tilstedeværelse af uforandret Rørsukker i Urten lader dette Fænomen sig dog let forklare, idet dette efter Tilsætning af Gjæren hurtig inverteres, hvorved Reduktionsevnen vil stige, medens den egentlige Gjæring, som atter bringer den til at synke, først noget senere vil indfinde sig.

Som ovenfor omtalt, gaar Fermentvirkningen under Maltets Udtrækning med Vand eller meget fortyndede Syrer dels ud paa Omdannelsen af Rørsukker, dels paa Opløsningen af en større Mængde Stof. Den første Virkning skyldes et inverterende, den anden et diastatisk Ferment, der formaar at bringe 8 %, ja ved Tilsætning af lidt Syre endogsaa 11 %, ikke direkt opløselige Stoffer i Opløsning. Angaaende Sammensætningen af disse 8 (11) % kan jeg ikke udtale mig bestemt, dog synes det, som om den største Del deraf bestaar af Maltose, dannet ved Diastasens Indvirkning paa visse allerede stærkt korroderede Stivelsekorn.

De to Fermenter ere ikke tilstede i samme Forhold i alle Dele af det spirende Frø. Saaledes vil et Udtræk af Rodspirerne (før Tørringen) vel indeholde et inverterende, men derimod intet diastatisk Ferment.

Den anselige Nydannelse af Rørsukker under Spiringen synes utvivlsomt at antyde, at dette Stof spiller en Rolle ved Kimplantens Ernæring, ligesom jo ogsaa Fremkomsten af et inverterende Ferment viser, at der er truffet Omsorg for, at Rørsukkeret kan blive gjort tilgjængeligt for den unge Plante. Det maa derfor anses for sandsynligt, at ligesom Rørsukkeret langsomt inverteres under Spiringen, saaledes bearbejdes ogsaa Produkterne af Inversionen, Dextrose og Lævulose, efterhaanden af Kimplanten og forsvinde som saadanne; den hele Mængde Rørsukker, som dannes,

maa derfor være endnu større, end den man finder i Grønmaltet. Rørsukker maa altsaa opfattes som et Slags Gjennemgangsled ved Translokationen af de kvælstoffri Stoffer i det spirende Frø. Som bekjendt, antage Plantefysiologerne, at det nærmest er under Form af Glykose, at Vandringen af disse Stoffer finder Sted; her er dog Ordet Glykose taget i en mere omfattende Betydning end i Kemien, idet man simpelthen dermed betegner reducerende Sukkerarter, som man i Almindelighed ikke er istand til at skille fra hverandre eller paavise ved Siden af hverandre, idetmindste ikke ad mikrokemisk Vej. Hvor man har været istand til at underkaste Forholdene en nøjere Prøvelse, navnlig ved Benyttelse af den optiske Analyse ved Siden af den kemiske, har man næsten altid fundet Dextroset i Planten ledsaget af sin ækvivalente Mængde Lævulose, det er, som Invertsukker og ved Siden deraf som oftest en større eller mindre Mængde uforandret Rørsukker (jvfr. Buignets Undersøgelser over Frugter; Annales de Chimie & de Physique, 3 série, tome 61, pag. 223).

Om Maltoset, som ligeledes dannes under Spiringen som Følge af det diastatiske Ferments Virksomhed, direkte kan assimileres af Kimplanten, ved man ikke, om det end er sandsynligt; en Mulighed var der jo for, at det kun dannede et Overgangsled ved Rørsukkerdannelsen. Af hvilke andre Stoffer Rørsukkeret opstaar, er overhovedet et aldeles aabent Spørgsmaal, hvis Besvarelse utvivlsomt er særdeles vanskelig. Kjendskabet til de uopløselige Kulhydrater i Bygget er ligesaa ufuldstændig som til de opløselige; af flere Forfattere er det dog bleven fremdraget, at der i Byg foruden Stivelsen, som hører til den højredrejende Række, findes et andet uopløseligt eller tungtopløseligt Kulhydrat af den venstredrejende Række, som Kühnemann kalder Sinistrin, O'Sullivan antager for identisk med Inulin, men om hvis Natur man dog langtfra er tilstrækkelig paa det rene. Under Spiringen forsvinder dette Kulhydrat tilligemed en Del af Stivelsen, og det ligger da nær at antage, at Rørsukkeret, som i sig indeholder baade det højredrejende og det venstredrejende Element, kunde være dannet paa Bekostning af de to nævnte Stoffer.

Jeg maa paa dette Sted omtale et hidtil ubekjendt Kulhydrat, som optræder i vexlende Mængder saavel i Byg som i Malt, og som man træffer i det Bundfald, som Vinaand giver med Koldtvandsudtrækket af disse. Som bekjendt, finder man i de fleste Analyser af Kornsorterne D e x t r i n opført som en væsentlig Bestanddel. Dette skyldes dog nærmest den ufuldkomne analytiske Methode, som i Regelen anvendes, og hvorved alt, som efter Be-

handling med Syrer giver reducerende Sukker, beregnes som Dextrin; herved kunne jo rigtignok de mest heterogene Ting komme ind under denne Rubrik, f. Ex. netop Rørsukker. I Virkeligheden have Alle, som have underkastet disse Forhold en nærmere Prøvelse, ikke kunnet paavise Dextrin færdig dannet i Planten, saaledes Kühnemann (Byg), O'Sullivan (Byg), A. Müntz (Rug) o. fl. Sikkert er det, at det Kulhydrat, som man blandt andre Ting træffer i det omtalte Vinaandbundfald, er aldeles forskjelligt fra Dextrin; forsaavidt dette dannes, hvad der jo paa Forhaand kan synes rimeligt nok, som et Produkt af Diastasens Indvirkning paa Stivelse, maa det derfor enten hurtigt lide yderligere Omdannelse eller i det Hele kun optræde i ganske underordnet Mængde.

Trods Anvendelse af flere forskjellige Methoder til Rensning af det nævnte Kulhydrat har jeg endnu ikke været istand til at fremstille det i ren Tilstand, idet det vedblivende gav en temmelig stærk Reaktion for Kvælstof ved Ophedning med Natronkalk, ligesom det bestandig udviste et betydeligt Indhold af Askebestanddele. Et Produkt, der væsentlig bestaar af dette Stof, vil kunne fremstilles paa følgende Maade: Byg eller Malt udtrækkes efter Findeling med omtrent 4 Dele koldt Vand i nogle Timer under jævnlig Omrøring; det klart filtrerede Udtræk fældes med basisk eddikesurt Blyilte, hvorved et større Overskud heraf maa undgaas (jvfr. pag. 356), filtreres, Blyet fældes med Svovlbrinte, Syren neutraliseres, og Opløsningen inddampes til henved en Femtedel af det oprindelige Rumfang. Den saaledes inddampede Vædske fældes nu med et stort Rumfang stærk Vinaand, Bundfaldet opløses paany i Vand, efter at Vinaanden er trykket af mellem Filtrerpapir, fældes paany med Vinaand, og denne Behandling gjentages flere Gange, indtil Opløsningen saagodtsom ingen Reduktionsevne udviser overfor Fehlings Vædske. Bundfaldet, der første Gang er seigt og klumpet, bliver ved hver ny Fældning stedse mere løst og fnugget, men sætter sig bestandig godt og lader sig let filtrere. Opløsningen affarves med Benkul. Efter Inddampning paa Vandbad til Tørhed faas nu en ufarvet eller svag gullig Masse af glasagtigt Brud, der minder om arabisk Gummi eller Dextrin. Fælder man derimod efter Behandling med Benkul Opløsningen med absolut Vinaand i stor Mængde, faar man det samme Stof som et løst, snehvidt Pulver, der ved Tørring over Svovlsyre beholder dette Udseende.

Et ad denne Vej fremstillet Produkt indeholdt 5,2 % Aske og udviste ved Elementaranalysen følgende Sammensætning, beregnet paa den askefri Substants:

C	46,5 %
H	6,4 -
N	1,2 -
O	45,9 -
	100,0 %.

Det viste sig altsaa i det væsentlige at være sammensat som et Kulhydrat, medens dog Indholdet af Kvælstof ikke tillader at opstille nogen bestemt Formel. Dog synes det ved Sammenligning med Kulhydraterne af Formlen $C_6 H_{12} O_6$, der giver C = 40,00 %, H = 6,67 % og O = 53,33 % og dem af Formlen $C_6 H_{10} O_5$ med C = 44,45 %, H = 6,17 % og O = 49,38 %, nærmest at maatte henføres til den sidstnævnte Gruppe. Men da Sammensætningen altsaa i hvert Tilfælde er usikker, har jeg foretrukket indtil videre ikke at opstille noget særligt Navn for denne Forbindelse.

En Del af dennes væsentligste Egenskaber ser jeg mig dog i Stand til at angive, Egenskaber, af hvilke nogle tilstrækkeligt karakterisere dette Stof som et fra andre nærstaaende Forbindelser forskjelligt. Det opløser sig let og fuldstændigt i Vand, Opløsningen er klar, men ved en større Koncentration gummiagtig. Opløsningen viser ingen Reduktionsevne for alkaliske Kobberopløsninger; herved maa dog bemærkes, at det sjælden lykkes at fremstille den saa aldeles fri for Sukker, at man ikke faar en lille Reduktion, som dog aabenbart skyldes en slig Indblanding og ikke er karakteristisk for det nye Stof. Sætter man Gjær til Opløsningen faar man ingen Udvikling af Kulsyre, Stoffet er altsaa ikke gjæringsdygtigt; undertiden kan man dog af samme Grund, som nys nævnt, iagttage en ganske lille Kulsyredannelse ved længere Henstand med Gjær. Ved Tilsætning af Vinaand fældes Stoffet, som ovenfor omtalt, af sin vandige Opløsning; det er dog ret let opløseligt i ikke altfor stærk Vinaand, hvorfor Fældningen altid bliver meget ufuldstændig, naar man ikke tager ret koncentrerede Opløsninger og rigelige Mængder absolut Vinaand; det er kjendelig lettere opløseligt i Vinaand end baade Gummi og Dextrin. Ligesom Sukker og Dextrin fældes det hverken af normalt eller basisk eddikesurt Blyilte (jvfr. Fremstillingsmaaden), før efter Tilsætning af Ammon. Ligesom de nævnte Kulhydrater danner det Forbindelser med Metaller, der ere mer eller mindre uopløselige i Vinaand og opløselige i Vand. Sætter man saaledes til Opløsningen deraf Barytvand i Overskud og derefter Vinaand, fældes Barytforbindelsen som et hvidt, fyldigt Bundfald. Fældningen er her allerede ret fuldstændig ved Tilsætning af ½ Maal Vinaand, medens man ved Sukkerarterne behøver et Par Maal, et Forhold, der dog

ikke med Fordel lader sig benytte til en Adskillelse. Forbindelsen opløser sig ret let i Vand og lader sig, i Lighed med de tilsvarende Forbindelser af Sukker og Dextrin, let dekomponere ved Tilsætning af Svovlsyre eller Tilledning af Kulsyre, hvorved man atter faar det oprindelige Kulhydrat. Herved viste sig imidlertid en stærk Evne hos det nye Stof til at forhindre finkornede Bundfald fra at sætte sig; Vædsken forblev uklar i ugevis af den svovlsure eller kulsure Baryt; først da klarede den sig lidt i den øverste Del af Glasset, men samtidig havde der her indfundet sig en Skimmelvegetation, der rimeligvis ved Forbrænding havde fjernet Stoffet mer eller mindre fuldstændigt af Opløsningens øverste Lag. Tilsætter man en Opløsning af eddikesurt Blyilte og leder Svovlbrinte i Vædsken, gaar Svovlblyet ligesom ved arabisk Gummi igjennem Papiret ved Filtrationen; jo renere Opløsningen er med Hensyn til det nye Kulhydrat, desto mere fremtrædende er dette Forhold. Disse Egenskaber ved Opløsningen gjøre, som sagt, Barytmethoden uanvendelig ved Adskillelsen fra Sukkerarterne. Sætter man til en koncentreret Opløsning vinaandig Kali eller Natron, faar man ligesom ved andre Kulhydrater fældet en Kali- eller Natronforbindelse, der, efter at den ovenstaaende Vædske er heldt fra, og man har skyllet nogle Gange med Vinaand, let lader sig opløse i Vand til en Vædske af stærk alkalisk Reaktion. Ved Opvarmning farves denne Opløsning gul, hvorimod den ingen Farveforandring lider ved Henstand ved almindelig Temperatur. Efter Neutralisation med Syre fælder Vinaand det oprindelige Kulhydrat. Den tidligere nævnte Indblanding af kvælstofholdige Stoffer og Askebestanddele gjenfandtes, efterat Stoffet havde været underkastet alle disse Behandlinger.

Den vandige Opløsning af dette Stof viser en stærk venstredrejende Evne, hvad der tilstrækkeligt adskiller det fra Dextrin; saavidt det kunde skjønnes, er $(\alpha)_D$ = nogle og fyrretyve Grader. Hr. Th. Thomsen har for ikke længe siden publiceret en Række mærkelige Iagttagelser over Forholdet mellem den optiske Drejningsevne og den molekulare Sammensætning (jvfr. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1880 pag. 2168 og 2264 og 1881 pag. 29 og 134, Tidsskrift for Physik og Chemi, 20de Aargang, pag. 1 og 65); han opstiller her for Kulhydraterne Relationen $\frac{(\alpha)_D \cdot M}{100} = C. 19{,}0$, hvori M er Molekylet, C et helt Tal, Opløsningens Koncentration konvergerende til O. Ifølge dette vilde det her omtalte Stof, under Forudsætning af, at dets Formel, som ovenfor antaget, er den samme som Stivelsens og Dextrinets $C_6H_{10}O_5$,

altsaa Molekylets Størrelse = 162, rimeligvis være $(\alpha)_D = -46{,}9^0$ idet $(\alpha)_D = C. 19{,}0 : 1{,}62 = C. 11{,}73$, i hvilken Ligning da C = 4 nærmest vil give Overensstemmelse med de iagttagne Værdier for Drejningsevnen, som naturligvis, da Stoffet ikke kunde fremstilles ublandet, ikke angive den sande specifiske Drejning, men rimeligvis falde lavere end denne. Af samme Grund differerede de forskjellige Iagttagelser temmelig stærkt indbyrdes, man fandt saaledes for en Prøve $(\alpha)_D = -43^0$, for en anden $(\alpha)_D = -37^0$, for en tredie $(\alpha)_D = -41^0$ o. s. v.

Ved Kogning med Syrer omdannes dette Stof til en reducerende Sukkerart, idet samtidig Drejningen gaar over fra at være negativ til at blive positiv. Af en Opløsning, som indeholdt 2,85 Grm. paa 100 Kub. Centimeter, blev 20 Kub. Cent. behandlet med 1 Kub. Cent. Saltsyre paa 25 % i en halv Time ved 100°, hvorved der fandt en ringe Udskilning Sted af et fnugget Bundfald; man neutraliserede med Natron og fyldte op til 50 Kub. Centimeter. Denne Opløsning viste nu, reduceret til det oprindelige Rumfang, en Reduktion svarende til 2,56 % Druesukker (ca. 90 % af det indvejede Stof) og en Drejning $\alpha = 1{,}41^0$. Forholdet $\frac{\alpha}{S}$ bliver altsaa $= 0{,}55^0$, medens det for almindelig Dextrose er $= 0{,}53^0$. De to Tal stemme saa nær indbyrdes overens, at der næppe kan være Tvivl om, at den Sukkerart, som det nye Stof giver ved Behandling med Syre, er fuldkommen identisk med almindelig Dextrose. Ligesom denne gaar ogsaa den her omtalte Sukkerart med største Lethed i vinaandig Gjæring.

Ved dette Forhold synes dette Stof at adskille sig fra alle hidtil bekjendte Kulhydrater. I det overvejende Antal Tilfælde forandres Drejningen ved Kulhydraternes Behandling med Syre i negativ Retning, Rørsukker giver Invertsukker, Stivelse, Dextrin og Maltose give Druesukker, Inulin giver Lævulose, Sinistrin (et af Schmiedeberger i Urginea Scilla paavist Kulhydrat, der forøvrigt i Drejningsevne stemmer temmelig nær overens med det her omtalte) giver ligeledes et Omdannelsesprodukt, der drejer stærkere tilvenstre. Kun Arabinsyre ($(\alpha)_D = -87{,}5^0$) giver ligesom det nye Stof ved Behandling med Syrer et højredrejende Sukker. Men herfra er dette Stof, som det tilstrækkeligt vil fremgaa af det foran udviklede, aldeles forskjelligt. Arabinsyren giver jo ogsaa ved sin Inversion ikke Dextrose, men en ganske anden Sukkerart, Arabinose, der blandt andet udmærker sig ved en Drejningsevne $(\alpha)_D = +103^0$, ved en noget større Reduktionsevne end Dextrose og ved ikke at gaa i vinaandig Gjæring.

Ved Behandling med Diastase eller Invertin synes det nye Kulhydrat ikke at lide nogen Forandring.

Med Hensyn til den Mængde, hvori dette Stof forekommer i Byg og Malt, kan jeg desværre intetsomhelst angive med Sikkerhed. Da det kun fældes ufuldstændigt af Vinaand, ikke er gjæringsdygtigt og viser et negativt Forhold overfor de opløselige Fermenter, og da det endelig ikke engang er lykkedes at isolere det ved Hjælp af nogen af dets Forbindelser, maa selvfølgelig ethvert Forsøg paa dets kvantitative Bestemmelse foreløbig glippe. Dog synes det at forekomme noget rigeligere i Malt end i Byg, og da navnlig i Malt, som er fremstillet af slet høstet Byg, og som har spiret mindre vel, medens det i Malt af vel høstet Byg, som har udviklet sig normalt, kun synes at være tilstede i ganske underordnet Mængde. I alle Tilfælde er Udbyttet, som man faar ved den ovenfor angivne Fremstillingsmaade, kun meget ringe, idet meget vistnok gaar tabt ved de gjentagne Fældninger med Vinaand. I Urt vil det i Sammenligning med den store Mængde andre Kulhydrater kun udgjøre en meget ringe Del af Extraktet, hvorimod det, da det ikke er gjæringsdygtigt, vil være tilstede i forholdsvis rigeligere Mængde i Øl og udgjøre en større eller mindre Del af det, man almindeligvis betegner som Øllets »Dextrin«. Paa Grund af den ovenfor omtalte Evne hos dets Opløsninger til at holde smaa Partikler suspenderede kommer en større eller mindre Mængde deraf muligvis til at spille en Rolle ved Øllets mindre eller større Tilbøjelighed til at klare sig under Lagringen.

For at kunne tage fat paa Løsningen af Spørgsmaalet om de forskjellige Kulhydraters fysiologiske Betydning, om deres Optræden og Omdannelser under Organismens Udvikling, er det fremfor alting nødvendigt at søge at udvikle Analysen yderligere paa dette Punkt. Man maa fremdeles søge efter specielle Methoder til de enkelte Kulhydraters Bestemmelse, ligesom her er gjort for Rørsukkerets Vedkommende, og saavidt muligt vrage de indirekte Bestemmelser, der først give Resultatet efter Løsningen af n Ligninger med n Ubekjendte. Og da Kylhydraternes almindelige kemiske Forhold ved deres store indbyrdes Lighed i denne Henseende kun synes at ville yde ringe Tjeneste ved en slig Adskillelse, tror jeg, at man fremdeles bør søge efter nye Methoder i disse Stoffers forskjellige »fysiologiske« Forhold, det er, den forskjellige Maade, hvorpaa de paavirkes af Organismerne eller de af disse

udsondrede Fermenter. Som et Exempel paa, hvorledes man muligvis ad denne Vej vil kunne føre Undersøgelsen videre, skal jeg nævne et andet af vore vigtigste og mest udbredte Kulhydrater, nemlig Maltoset. Den oftere nævnte engelske Kemiker Hr. Hor. Brown har i en interessant Afhandling om Tarmkanalens Fermenter paavist, at der i Tarmkanalen og navnlig i dennes øverste Del, jejunum, findes et Ferment, som i ringe Grad lader sig udtrække med Vand, men for største Delen er knyttet til selve Vævet, og som har den mærkelige Egenskab, at omdanne Maltose til Dextrose, medens det saa at sige er uden Virkning paa Stivelseklister, hvis Omdannelse til Maltose og Dextrin foregaar i de foran liggende Dele, navnlig i Mundhulen (ved Ptyalinet) og ved Fermentet fra Bugspytkjertlen eller Pankreas (Pankreasdiastasen). Ogsaa paa Rørsukker virker Tarmfermentet omdannende, dog i ringere Grad. Efter denne Iagttagelse bliver det ret sandsynligt, at Maltose ligesaa lidt som Rørsukker direkte kan assimileres af de højere Organismer, medens det i Modsætning til Rørsukker direkte forbrændes eller forgjæres af mange lavere staaende Former, som Skimmel og Gjær.

Denne Reaktion har jeg oftere havt Lejlighed til at iagttage; en Maltoseopløsning, der i 24 Timer blev henstillet ved 52^0 med lidt Thymolopløsning og en tilstrækkelig Mængde finthakket Svinetarm, der først var omhyggelig renset, blev i Løbet af denne Tid fuldstændig omdannet til Dextrose, idet Forholdet $\frac{\alpha}{S}$ gik ned fra $2{,}_{26}{}^0$ til $0{,}_{53}{}^0$. Man kan meget vel benytte dette Forhold til en Bestemmelse af Maltose ved Siden af Rørsukker, som det vil ses af det følgende Forsøg, idet man først omdanner Rørsukkeret ved Invertin og derefter Maltoset med Tarmfermentet; til en Volumenprocent Maltose skal der svare en Drejningsformindskelse $\alpha = 0{,}_{82}{}^0$ og en Reduktionsforøgelse $S = 0{,}_{44}$ %.

50 Kub. Centimeter af en Opløsning, som indeholdt $2{,}_{47}$ Volumenprocent Maltose og $2{,}_{53}$ Vol.pc. Rørsukker, blandedes med 2 Kub. Cent. Thymolopløsning og 5 Kub. Cent. Gjær og henstilledes i 24 Timer ved 52^0. Efter Filtration fik man følgende Værdier for α og S (reducerede til Rumfanget 50 Kub. Cent.):

Prøven med aktiv Gjær $\alpha' = 2{,}_{82}{}^0$, $S' = 4{,}_{10}$ %.
— - passiv — $\alpha = 5{,}_{10}{}^0$, $S = 1{,}_{50}$ %.
$\alpha - \alpha' = 2{,}_{28}{}^0$ giver $2{,}_{55}$ % Rørsukker
$S' - S = 2{,}_{60}$ % — $2{,}_{48}$ - —
Middeltal $2{,}_{51}$ % Rørsukker (istedetfor $2{,}_{53}$ %).

25 Kub. Centimeter af Filtratet behandledes i 2 × 24 Timer ved 52° med 6 Grm. finthakket Svinetarm. Man tilsatte $^1/_2$ Kub. Cent. basisk eddikesurt Blyilte, fyldte op til 50 Kub. Cent. og filtrerede. Samtidig udførtes et Parallelforsøg med samme Mængde Tarm, som man iforvejen ved Opvarmning til 100° havde berøvet Fermentevnen. Følgende Værdier fandtes for Drejning og Reduktion (reducerede til det oprindelige Rumfang af 50 Kub. Centimeter, og efter at en Korrektion var indført for Tarmens Tørstofmængde):

Prøven med aktiv Tarmferment $\alpha'_{20^0} = 0{,}92^0$, $S' = 5{,}13$ %.
— - passivt — $\alpha_{20^0} = 2{,}85^0$, $S = 4{,}12$ %.
$\alpha - \alpha' = 1{,}93^0$ giver $1{,}93 : 0{,}82 = 2{,}35$ % Maltose.
$S' - S = 1{,}01$ % — $1{,}01 : 0{,}44 = 2{,}30$ % —

Middeltal 2,33 % Maltose
(istedetfor 2,47 %).

Ogsaa i Maltudtræk, som er behandlet med Invertin, frembringer Tarmfermentet en Formindskelse af Drejningsevnen og en Forøgelse af Reduktionsevnen, som antyder Tilstedeværelsen af Maltose. De to Bestemmelser vare imidlertid ved de faa Forsøg, som jeg har havt Lejlighed til at anstille herover, mindre vel overensstemmende, saa at jeg ikke har været i Stand til at benytte Methoden til yderligere Undersøgelser over den Mængde Maltose, som findes færdigdannet i Maltet. Det er jo heller ikke umuligt, at Tarmfermentet kan paavirke andre Kulhydrater end Maltose i Maltudtrækket og derved gjøre Resultaterne usikre. Som et Exempel henstilles følgende Forsøg:

Et med Invertin behandlet Koldtvandsudtræk af Malt indeholdt 7,28 Volumenprocent Tørstof og viste $\alpha_{20^0} = 1{,}47^0$ og $S = 4{,}11$ %.

50 Kub. Centimeter heraf behandledes i 48 Timer med 10 Grm. finthakket Tarm ved 52° efter Tilsætning af 2 Kub. Cent. Thymolopløsning. Man tilsatte 1 Kub. Cent. basisk eddikesurt Blyilte, fyldte op til 100 Kub. Cent. og filtrerede. Et Parallelforsøg toges med passivt Tarmferment. Følgende Værdier fandtes for Drejning og Reduktion:

Prøven med aktivt Tarmferment $\alpha'_{20^0} = 0{,}14^0$, $S' = 4{,}94$ %.
— - passivt — $\alpha_{20^0} = 1{,}45^0$, $S = 4{,}10$ %.
$\alpha - \alpha' = 1{,}31^0$ giver $1{,}6$ % Maltose.
$S' - S = 0{,}84$ % — $1{,}9$ % —

Middeltal (usikkert) 1,75 % Maltose eller
24 % af Extraktet.

Fremdeles er det muligt, at vi i disse Stoffers Forhold overfor adskillige gjæringsvækkende Organismer ville kunne finde Midler til deres Adskillelse eller idetmindste til deres Paavisning. Et Exempel herpaa have vi jo i den højst interessante Iagttagelse af min Kollega Dr. E. Chr. Hansen, som findes meddelt i hans foranstaaende Afhandling, ifølge hvilken en Gjærsvamp, Saccharomyces apiculatus, er istand til at forgjære Druesukker (og Invertsukker), men derimod lader Rørsukker urørt, fordi den mangler det inverterende Ferment.

UNDERSØGELSER OVER DE ORGANISMER, SOM TIL FORSKJELLIGE TIDER AF AARET FINDES I LUFTEN I OG OMKRING CARLSBERG, OG SOM KUNNE UDVIKLE SIG I ØLURT.

(ANDEN MEDDELELSE.)

AF

EMIL CHR. HANSEN.

INDLEDNING.

Siden den første Meddelelse om ovennævnte Undersøgelser udkom 1879 i min Doktordisputats »Organismer i Øl og Ølurt« p. 102—124, og derefter samme Aar i nærværende Tidsskrifts 2det Hefte p. 185—209, er der i Udlandet blevet offentliggjort en ikke ubetydelig Literatur over Luftens Mikroorganismer. Ligesom tidligere er det navnlig Bestræbelser efter at løse de store Problemer om Smitsygdommenes Oprindelse og Udbredning, der have sat Forskerne i Bevægelse. De mest omfattende Studier i denne Retning skyldes Miquel. Ved Observatoriet Montsouris i Nærheden af Paris har der allerede i nogle Aar været oprettet et særeget Laboratorium, hvis Opgave det er at udføre saadanne Undersøgelser, og Forstanderen herfor er den nævnte Forsker. I det Følgende gives en sammentrængt Fremstilling og kritisk Belysning af Videnskabens Udvikling i den nævnte Retning siden Begyndelsen af Aaret 1879, og der tages heri bestandig særligt Hensyn til de Berøringspunkter, som de omhandlede Arbejder have med mit eget.

Miquel's Undersøgelser[1]), som vi først skulle omtale, bleve udførte ved Hjælp af et Aëroskop, en Modifikation af de af Pouchet,

---

[1]) Miquel, Etude sur les poussières organisées de l'atmosphère. (Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1879, p. 431).

Maddox og Cunningham benyttede Apparater. Det bestaar hovedsagelig af en Klokke, fra hvis Isse et Rør udgaar, til hvilket Luften indsuges og derpaa maales. I Klokkens nederste, aabne Parti er der indskruet en hul Kegle med en meget fin Aabning i Spidsen, og ovenover denne er atter anbragt en tynd Glasskive, et Dækglas, som er overstrøget med en Blanding af Glycerin og Glykose. Paa dette er det, at den gjennem Keglen nedenfra indstrømmende Luft afsætter sit Støv. Mikroorganismerne heri bestemmes ved Tælling, dog ikke Bakterierne. I den Hensigt blandes ved Hjælp af en Naal, som i Forvejen er bleven trukken igjennem en Flamme, Støvpartiklerne godt sammen med den klæbende Vædske, og naar dette er sket, renses den hertil benyttede Naalespids med en Draabe af en lignende, men ren Vædske, der derpaa endelig ogsaa anbringes paa det omtalte Dækglas. Dette lægges paa et Objektglas saaledes, at de opfangede Mikroorganismer blive jævnt fordelte i Præparatet, hvilket anbringes under Mikroskopet, og Tællingen foregaar nu her paa den Maade, at man i de forskjellige Partier bestemmer de tilstedeværende Antal i Synsfeltet for at udfinde Middeltallet. Heraf mener Miquel da, idet han kjender Forholdet mellem Synsfeltets og Præparatets Størrelse, tilnærmelsesvis at kunne bestemme det hele Antal af tilstedeværende Mikroorganismer. Han fandt, at Luften indeholder i det Mindste 100 Gange flere Kim, end Maddox og Cunningham angive, og mener, at yderligere Forbedringer i de benyttede Instrumenter ville give endnu større Tal. Ved Siden heraf har Miquel ogsaa benyttet den af Pasteur anvendte Fremgangsmaade til at opfange Luft i Næringsvædsker saaledes, at Mikroorganismerne kunne komme til Udvikling deri; men det ses ikke tydeligt, hvorledes han hermed i det Enkelte har forholdt sig og ej heller, i hvilket Forhold de derved indvundne Resultater staa til de ved den aëroskopiske Methode opnaaede. Som almindelige Regler fremhæver han, at Kimenes Antal i Luften er ringe om Vinteren, at det voxer hurtigt om Foraaret, at det forbliver betydeligt om Sommeren, og at det aftager om Efteraaret. En Regn af nogen Betydenhed fremkalder altid en Tilvæxt af Mikroberne, navnlig af unge Former. I tørre Perioder aftage de derimod. Ude paa Landet, fandt Miquel, havde Vindene ingen Indflydelse paa Mikroorganismernes Optræden i Luften; dette var derimod Tilfældet i Paris. Ved Kim og Mikrober tænker han paa Luftens Mikroorganismer med Undtagelser af Bakterier; der er altsaa her kun nærmest Tale om de Former, som vi med et fælles Navn pleje at kalde Skimmelsvampe. Miquel's Betegnelser ere ofte utydelige og holdte i en for stor Ubestemthed, og hans for-

øvrigt interessante Afhandling er ikke klart affattet. De ledsagende Figurer af Skimmelsporer, Pollenkorn o. s. v. ere for raat udførte til at kunne give nogen virkelig Oplysning.

Som en Mislighed ved den aëroskopiske Methode har Cohn med Rette fremhævet, at man ikke paa denne Maade faar det vigtige Spørgsmaal besvaret, om de i Luften omkringsvævende Mikroorganismer ere levende eller ej. Angaaende den af Miquel anvendte Tællemethode kan der ogsaa rejses Indvendinger; det vil saaledes i Virkeligheden ikke altid være muligt paa den angivne Maade at faa de i Glycerin- og Sukkerblandingen paa Dækglasset værende Legemer endogsaa kun tilnærmelsesvis jævnt fordelte, hvilket kræves for med nogen Sikkerhed og ikke altfor stort Besvær at kunne finde det sande Middeltal. Bestemmelsen af de i den klæbrige Vædske opfangede Organismer og Smaalegemer vil i de fleste Tilfælde være meget vanskelig og undertiden ligefrem umulig; man vil f. Ex. endog ofte ikke kunne afgjøre, om man har en Skimmelspore eller en Gjærcelle for sig. Aarsagen til den Utydelighed, der paa flere Steder findes i Miquel's Afhandling, turde for en Del have sin Grund heri. Det bør imidlertid erindres med Hensyn til disse og lignende Anker, som kunne rejses, at det er en ny Verden, som Forskningen her er i Færd med at erobre, at der ikke foreligger rig Erfaring, og at Alt endnu er i stærk Udvikling. Det sikre Grundlag for en rolig, planmæssig fremadskridende Forskning skal først tilkæmpes.

I det plantefysiologiske Laboratorium i Breslau har Miflet under Professor Cohn's Vejledning fra Midten af Marts til Slutningen af Juli 1878 udført en Række Undersøgelser over de i Luften værende Bakteriekim[1]). Der blev her lagt særlig Vægt paa at erfare, om de opfangede Kim vare levende eller ej, og i den Hensigt blev der ledet store Luftmængder igjennem Næringsvædsker, for at det indeholdte Støv kunde udvaskes. Det af Cohn tidligere i dette Øjemed anvendte Apparat var, som jeg allerede har omtalt i min første Meddelelse, ikke heldigt. Han har nu indført en Forbedring deraf, idet han som Aspirator anvender en af Bøhme i Brünn efter Arzberger og Zulkowsky konstrueret Vandluftpumpe, der er let at flytte, og som kan sættes saaledes i Forbindelse med flere Glas med Næringsvædske, at der igjennem hver paa samme Tid kan ledes en særskilt Luftstrøm. Denne Luftpumpe skal fremfor andre Aspiratorer have det Fortrin, at man ved Hjælp af den

---

[1]) Miflet, Untersuchungen über die in der Luft suspendirten Bacterien. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 3 B., 1879, p. 119).

kan indsuge en i en ubegrændset Tid uafbrudt og bestemt Luftstrøm. Der blev i Timen indsuget c. 150 Liter. Som Næringsvædsker anvendtes en 10 % Maltextraktopløsning, en 1 % Kjødextraktopløsning og en mineralsk Opløsning; det viste sig, at de to førstnævnte Næringsvædsker i Almindelighed vare gunstige for Bakteriers Udvikling. Efter at den ønskede Luftmængde var optagen, bleve Glassene stillede ind i en Varmekasse ved omtrent 30° C. i 3 Dage, derpaa bleve de mikroskopisk undersøgte. Luftprøverne bleve tagne fra et Arbejdsværelse i Laboratoriet, fra samme Bygnings Gaard og Kloakrum, fra den botaniske Have, fra kirurgisk Kliniks Operationsværelse, fra det pathologiske Instituts Sektionsværelse og fra et Sygehus med Tyfuspatienter. Der blev herved konstateret, at der i Luften findes talrige udviklingsdygtige Bakteriekim. Heriblandt savnedes flere af dem, der sædvanlig udvikle sig i gjærende Substantser, f. Ex. den ellers saa almindelige Forraadnelsesorganisme, Bacterium Termo, og ligeledes Spiriller og Spirochæter. Luften i det omtalte Sygehus viste sig at være fri for levende Bakterier, hvilket tilskrives Ventilationen og Desinfektionen. I den fra en Kloak opstigende Luft vare de derimod tilstede i Mængde. De Indpodningsforsøg, der anstilledes paa Dyr med nogle af de iagttagne Bakterier, fik alle et negativt Resultat, idet ingen Sygdom blev fremkaldt derved.

Imod den af Cohn og Miflet anvendte Fremgangsmaade kan der gjøres den Indvending, at det med Vandluftpumpen, og navnlig med dens Slanger, vanskeligt undgaas at føre Bakterier fra den ene Lokalitet til den anden. Naar man derimod paa hvert Punkt, hvor man ønsker at foretage Undersøgelser, anbringer et Exemplar af Apparatet, synes det at være meget anbefalelsesværdigt. Den Tid, Cohn og Miflet lode deres inficerede Glas staa til Prøve i Varmekassen, er altfor kort. Mine Forsøg have nemlig flere Gange lært mig, at Bakterier, naar de i en meget medtagen Tilstand anbringes i en endog for dem gunstig Næringsvædske, under gunstige Temperaturforhold, desuagtet ofte bruge over en Uge, førend de komme saa meget til Kræfter, at de formaa at formere sig. Endelig tør det ikke overses, at den Infektion, som fremkaldes i Næringsvædsken, ikke er et nøjagtigt Udtryk for den Bakteriemængde, der oprindelig fandtes i det indsugede Rumfang Luft; en Del af Bakterierne rives nemlig med Luftboblerne bort fra Vædsken, og en Del af de mindre kampdygtige blive undertrykkede i den Konkurrence, som ofte finder Sted.

Omtrent paa samme Tid som de ovennævnte Afhandlinger udkom, er der i Münchener Akademiets Skrifter blevet offentlig-

gjort to Undersøgelser over, hvorledes Bakterierne kunne komme i Luftens Støv. Den første af disse er udført af Soyka[1]) i Pettenkofers hygiejniske Institut. Han fandt, at det kun er meget ringe Kræfter, der kræves for at bringe saadanne smaa Legemer i Bevægelse, og at de Luftstrømninger, der ere tilstede i tilsyneladende stille Vejr, ere tilstrækkelige hertil. Han kommer derfor til det Resultat, at Bakterier bestandig i Mængde blive ophvirvlede i vort Lufthav og her førte omkring saavel fra tørre Flader som og fra fugtige, naar Fordampning finder Sted.

Herimod har Nägeli[2]) taget Ordet i en lang Afhandling, hvori han undersøger Lovene for de mindste Legemers Bevægelse.

Fra 1880 foreligger der tre Arbejder over vort Emne, nemlig af Hitchcock[3]), Yung og Miquel. Det førstnævnte har jeg ikke havt Adgang til.

I Yung's Afhandling[4]) findes Afbildninger og Beskrivelser af nogle Aëroskoper, der ere billigere end Miquel's. Hvor man ikke kan erholde et bedre Apparat, kunne de gjøre god Nytte, skjøndt de staa tilbage for den franske Forskers. Yung har udført lignende Undersøgelser som denne, og fandt ogsaa, at Skimmelsporerne i Aarets varmeste Maaneder ere tilstede i stort Antal, hvorimod de tage betydeligt af om Vinteren. Lige efter en stærk Regn eller efter et betydeligt Snefald er Atmosfæren i høj Grad renset for Mikroorganismer, men nogle Timer senere blive disse igjen meget talrige. Hver Vinter i Løbet af 5 Aar iagttog Yung Sneen i forskjellige Regioner. Den var rigere paa Organismer nede paa Slettelandet end paa Bjergene. Endog i betydelige Højder indeholdt den dog Skimmelsvampe og Bakterier. Luften i Egnen ved Genf var meget rigere paa Mikroorganismer end ved Montsouris. Vindens Retning var ikke uden Betydning. De Infektionsforsøg, som han paa Dyr foretog med de fra Luften opfangede Mikroorganismer, viste, at de vare uskadelige. Der fandtes altsaa ikke iblandt dem Former som Miltbrands-Baciller eller andre, der kunne fremkalde Smitsygdomme. Resultaterne af et større Forsøg, hvortil der efter Pasteur's Methode bliver anvendt

---

[1]) Soyka, Ueber den Uebergang von Spaltpilzen in die Luft. (Sitzunsber. der math. phys. Classe der Akademie der Wissenschaften zu München. B. IX. 1879. p. 140).

[2]) Nägeli, Ueber die Bewegungen kleinster Körperchen (l. c. p. 389).

[3]) Hitchcock, Studies of atmospheric dust. (Amer. monthly microscop. Jorn. I. 1880. p. 135—138).

[4]) Yung, Des poussières organisées de l'atmosphère. (Archives des sciences physiques et naturelles. Tome IV. Genève 1880. p. 573).

Vakuums-Kolber, som af ham og hans Venner aabnes paa forskjellige Steder, bebudes at ville blive offentliggjorte i en senere Afhandling.

I sine nye Undersøgelser over Luftens Støv meddeler Miquel[1]) først en Række lignende Iagttagelser, som de i det første Arbejde omtalte og udførte paa lignende Maade med Aëroskopet i Observatoriet Montsouris's Park, paa Gennevilliers, paa en Kirkegaard og endelig i Paris's Kloakkanaler. Undersøgelserne i Parken bleve udførte i Tiden fra 1ste Oktober 1878 til Slutningen af September 1879. Han fandt, væsentlig i Overensstemmelse med sine tidligere Resultater, at Antallet af de paa denne Maade iagttagne Organismer aftog fra Efteraaret til Vinteren; det var mindst i December og Marts, tiltog om Foraaret, naaede sit Maximum i Juli og aftog atter hurtigt henimod Aarets Slutning. Det syntes, som om Nordenvindene bidroge til at give en rig Høst. Luften paa Gennevilliers blev kun undersøgt kvalitativt, og der fandtes de samme Former som i Montsouris. I Luften fra Kirkegaarden fandt Miquel ikke blot ligeledes de samme Former som i Montsouris, men ogsaa væsentlig det samme Antal. Undersøgelsen af Luften i Kloakkanalerne viste, i Modsætning til hvad der finder Sted i Luften udenfor, at Antallet af Mikroorganismer, Bakterierne ikke medregnede, her ikke vare underkastede pludselige Svingninger. Dette skyldes sikkert den Ensformighed, der hersker saavel i Luftens Fugtighed som Temperatur. Det fremhæves, at denne fugtige, indesluttede Luft ofte indeholder 3 til 4 Gange færre Sporer end Luften udenfor. Den sidste, større Del af Afhandlingen indeholder Studier over Bakterierne, hvilke Organismer Miquel, som tidligere omtalt, i de foregaaende Arbejder ikke tog noget Hensyn til. Den aëroskopiske Methode har han ikke kunnet anvende paa dette Omraade, men har i Reglen indsuget visse Rumfang Luft direkte i kimfri Næringsvædske eller først i bekjendte Rumfang steriliseret Vand, hvormed derpaa kimfri Næringsvædsker, f. Ex. neutraliseret Kjødextrakt, senere bleve inficerede. Angaaende Aspirationen bemærker han, at Erfaringen har vist ham, at Luften, idet den langsomt i Bobler strømmer igjennem vedkommende Vædske, langtfra berøves alt sit Støv, men at der endog slipper ligesaa mange Bakterie-Kim igjennem, som der holdes tilbage. »Hvor illusorisk,« siger han, »er derfor ikke den gamle Methode til at sterilisere

---

[1]) Miquel, Nouvelles recherches sur les poussières organisées de l'atmosphère. (Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1880. p. 386).

Luften, naar man mente, at den blev renset for Bakterierne ved at passere gjennem koncentreret Svovlsyre.« Denne Bemærkning er rigtig, og den har ikke blot Betydning for Praxis i Laboratoriet, men ogsaa for den store Fabrikvirksomhed, hvor man ønsker at arbejde med filtreret Luft. Han iagttog, at lige store Rumfang Luft, indsugede paa det samme Sted men i Løbet af flere Dage, indeholdt et vexlende Antal af Bakterier. Paa en Dag kunne 2 eller 3 Liter være tilstrækkelig til at inficere vedkommende Næringsvædske med Bakterier, hvorimod den følgende Dag 25 og 50 Liter af Luften paa det selv samme Sted ikke fremkaldte andet end en Skimmelvegetation. En længere Regn renser i høj Grad Atmosfæren for Bakterier. Deres Antal forbliver ringe, saalænge Jorden er fugtig, og tager derpaa til, efterhaanden som den atter udtørres. Modsat Kryptogamerne med Luftfruktifikation (Skimmelsvampe) forøges Bakteriernes Antal betydeligt i de tørre Perioder. Han fandt, at Luften i Almindelighed kun er i temmelig ringe Grad opfyldt med Bakterier, men at disse derimod kunne optræde i et forholdsvis stort Antal i visse Hospitalssale. Naar han f. Ex. i sine Kolber med steriliseret Vand indsugede 50 Liter Luft ved Montsouris, saa viste denne Blanding sig i Almindelighed ude af Stand til at inficere de benyttede Næringsvædsker, hvorimod dette ingenlunde var Tilfældet, hvis Luften blev indsuget paa Hospitalet Saint-Christophe. Ved efterhaanden at anvende den beskrevne Infektionsvædske i forskjellige Portioner, iagttog han nemlig, at Luften i Hospitalet i det Mindste indeholdt 50 Gange flere Bakterier end Luften i Montsouris's Park. Han opstiller det Regnestykke, at en Person hvert Døgn i Hospitalet indaander 80,000 Kryptogamsporer (Skimmelsporer) og 125,000 Forraadnelsesorganismer (Bakterier), hvorimod det samme Menneske ved at tilbringe 24 Timer i fri Luft vilde komme til at indaande 300,000 Kryptogamsporer og derimod kun 2,500 Forraadnelsesorganismer. De i Luften opfangede Vanddampe viste sig bestandig at være af en meget stor Renhed. I Regn, i Hagel og i Sne fandt han derimod til enhver Aarstid »mikroskopiske Organismer«. Miquel mener vel hermed Bakterier, da dette Afsnit af hans Afhandling jo handler om disse. Lidt længere nede bruger han Udtrykket Mikrobe, uden at det ej heller her er muligt med Sikkerhed at se, hvilken Betydning han knytter dertil.

I 1881 har han udgivet en Fortsættelse af sine Studier i den nævnte Retning[1]). Det er formentlig Atmosfærens Bakterier, der

[1]) Miquel, Étude générale sur les bactéries de l'atmosphère. (Extrait de l'annuaire de Montsouris pour l'an 1881).



nu have været Gjenstand for hans Forskning. Han beskriver udførligt den Fremgangsmaade, han anvendte til at indsamle og tælle dem. Næringsvædsken, der bestod af neutraliseret Kjødextrakt, blev anbragt i en kugleformet Ballon med to modstaaende Rør, hvoraf det ene var bøjet og det andet ved sit Udspring forsynet med et Filter af Asbest til at opfange i det mindste nogle af de Organismer, der i den indsugede Luft slippe gjennem Vædsken. Luften førtes nemlig ind ad det bøjede Rør og forlod Ballonen gjennem det med det omtalte Filter udstyrede. En af Manglerne ved Cohn's Methode er følgelig herved tildels bleven afhjulpen. Naar Aspirationen var sluttet, blev Asbest-Filteret skyllet ned i Vædsken, hvorpaa Apparatet blev stillet ind i en Thermostat ved ca. 30° C., en Temperatur, der under de angivne Forhold syntes at være gunstig for de fleste Bakteriers Udvikling. Til at tælle de i Luften værende Bakterier anvender Miquel en Methode, imod hvis Exakthed han selv mener, at der ikke kan rejses alvorlige Indvendinger. Det er det første Forsøg i den nævnte Retning, og det kan derfor være lærerigt og interessant at betragte det nærmere. Ved forudgaaende Prøve skal den Experimenterende skaffe sig Kundskab om det Volumen Luft, som paa det givne Sted er istand til at inficere Halvdelen af de til Forsøget anvendte Balloner. Dersom den indsugede Luftmængde er for ringe til at inficere i det mindste en af Ballonerne, vil man selvfølgelig slet ingen Oplysning kunne erholde om Bakteriernes Antal, og hvis derimod Luftmængden er for stor, ville alle hurtigt fyldes med forskjellige Arter, hvoraf ofte en enkelt faar Overhaand og aldeles tilbagetrænger de svage. For at sætte mindre kampdygtige istand til ogsaa at udvikle sig, maa man søge at indføre Formerne hver for sig, saa at de svage kunne blive unddragne Konkurrencen og faa Lejlighed til en rolig Inkubation. Tællingen foregaar derved, at Antallet af de i Ballonerne indsugede Liter Luft bestemmes og ligeledes Antallet af de dermed indførte Bakterie-Arter, altsaa ikke de oprindeligt fangede Kims Antal. Miquel har selv havt Øje for de følgende Fejlkilder, som denne Fremgangsmaade indeholder: Det Støv, der indføres i en Ballon, kan indeholde flere end een Kim af samme Bakterie-Art, men det hele bliver dog senere talt for en; trods al Umage vil man ikke kunne forhindre, at der i samme Ballon ofte indsuges flere forskjellige Arter, saa at der opstaar Konkurrence, i hvilken de svagere undertrykkes, og disse blive da tidt ikke bemærkede og ikke talte med; Skimmelsporer, som formaa at udvikle sig i det neutraliserede Kjødextrakt, indføres undertiden, og idet de absorberer den i Vædsken værende Ilt

kunne de forhindre Bakterierne i at udvikle sig; den benyttede Næringsvædske og Temperatur er vel gunstig for de fleste Bakteriers Udvikling, dog ikke for alles; der bliver følgelig et Mindretal, som unddrager sig Opmærksomheden.

Jeg opfatter disse Fejlkilder som meget alvorlige, og navnlig fordi det ikke er muligt at bestemme deres Omfang. Miquel selv ser lysere paa Sagen og tilskriver dem ikke stor Betydning. Den væsentligste Indvending staar imidlertid tilbage: Hvorledes vil Miquel altid kunne afgjøre, om han har een eller flere Bakterie-Arter for sig? Paa Videnskabens nuværende Standpunkt er det en Umulighed. Hans egne Beskrivelser aflægge ogsaa et tydeligt Vidnesbyrd herom. Alene herved tabes imidlertid den ene af de to for Regnestykket nødvendige Faktorer, og de opførte Tal blive upaalidelige. Vi maa altsaa betragte hans Forsøg som mislykket. Denne Afhandling indeholder dog, ligesom hans foroven omhandlede, aandrige Betragtninger og almindelige Sætninger, der i flere Retninger paa en betydningsfuld Maade belyse det interessante Emne. I Overensstemmelse med sine tidligere Undersøgelser fandt han, at Antallet af Atmosfærens Bakterier, der er ringe om Vinteren, i Almindelighed vedbliver at være stort om Sommeren og hurtigt aftager ved Efteraarets Slutning. I Modsætning til, hvad der finder Sted hos Skimmelsvampene, er det ringe i de regnfulde Perioder, men forøges naar Jordbunden udtørres. Dette hidrører imidlertid ikke derfra, at Regnen kun er gunstig for Skimmelsvampenes og derimod ugunstig for Bakteriernes Udvikling. Den fremkalder nemlig i begge Tilfælde regelmæssig en livligere Vegetation. Men medens de førstnævnte frembringe Fruktifikationsorganer, der fra den fugtige Bund hæve sig op i Luften, saa at deres Konidier og Sporer med Vinden let kunne føres omkring, er dette derimod ikke Tilfældet med Bakterierne; de vedblive nemlig under alle Udviklingstrin at være mere eller mindre nedsænkede i deres fugtige Næringssubstrat; først naar dette udtørres og i Forening med dets Beboere bliver til Støv, kunne de af Vindene blive hvirvlede op i Luften og førte omkring. Ved at sammenligne Luftens Bakterieindhold inde og ude, fandt Miquel, at det i hans Laboratorium kun var tre Gange saa stort som i Parken ved Montsouris, hvorimod det i Hôtel-Dieu's medicinske Sale var omtrent 69 Gange større end paa det sidstnævnte Sted. Han fremhæver atter, at Antallet af Bakterier i Luften i Kloakkanalerne var meget ringere end de nævnte Hospitalssale. Altsaa et Resultat, aldeles modsat det, hvortil Cohn og Miflet kom ved deres Undersøgelser i Breslau. I et vist Rumfang Regn- eller Drikkevand, siger han, findes som Regel 4—500,000

nu have været Gjenstand for hans Forskning. Han beskriver udførligt den Fremgangsmaade, han anvendte til at indsamle og tælle dem. Næringsvædsken, der bestod af neutraliseret Kjødextrakt, blev anbragt i en kugleformet Ballon med to modstaaende Rør, hvoraf det ene var bøjet og det andet ved sit Udspring forsynet med et Filter af Asbest til at opfange i det mindste nogle af de Organismer, der i den indsugede Luft slippe gjennem Vædsken. Luften førtes nemlig ind ad det bøjede Rør og forlod Ballonen gjennem det med det omtalte Filter udstyrede. En af Manglerne ved Cohn's Methode er følgelig herved tildels bleven afhjulpen. Naar Aspirationen var sluttet, blev Asbest-Filteret skyllet ned i Vædsken, hvorpaa Apparatet blev stillet ind i en Thermostat ved ca. 30° C., en Temperatur, der under de angivne Forhold syntes at være gunstig for de fleste Bakteriers Udvikling. Til at tælle de i Luften værende Bakterier anvender Miquel en Methode, imod hvis Exakthed han selv mener, at der ikke kan rejses alvorlige Indvendinger. Det er det første Forsøg i den nævnte Retning, og det kan derfor være lærerigt og interessant at betragte det nærmere. Ved forudgaaende Prøve skal den Experimenterende skaffe sig Kundskab om det Volumen Luft, som paa det givne Sted er istand til at inficere Halvdelen af de til Forsøget anvendte Balloner. Dersom den indsugede Luftmængde er for ringe til at inficere i det mindste en af Ballonerne, vil man selvfølgelig slet ingen Oplysning kunne erholde om Bakteriernes Antal, og hvis derimod Luftmængden er for stor, ville alle hurtigt fyldes med forskjellige Arter, hvoraf ofte en enkelt faar Overhaand og aldeles tilbagetrænger de svage. For at sætte mindre kampdygtige istand til ogsaa at udvikle sig, maa man søge at indføre Formerne hver for sig, saa at de svage kunne blive unddragne Konkurrencen og faa Lejlighed til en rolig Inkubation. Tællingen foregaar derved, at Antallet af de i Ballonerne indsugede Liter Luft bestemmes og ligeledes Antallet af de dermed indførte Bakterie-Arter, altsaa ikke de oprindeligt fangede Kims Antal. Miquel har selv havt Øje for de følgende Fejlkilder, som denne Fremgangsmaade indeholder: Det Støv, der indføres i en Ballon, kan indeholde flere end een Kim af samme Bakterie-Art, men det hele bliver dog senere talt for en; trods al Umage vil man ikke kunne forhindre, at der i samme Ballon ofte indsuges flere forskjellige Arter, saa at der opstaar Konkurrence, i hvilken de svagere undertrykkes, og disse blive da tidt ikke bemærkede og ikke talte med; Skimmelsporer, som formaa at udvikle sig i det neutraliserede Kjødextrakt, indføres undertiden, og idet de absorberer den i Vædsken værende Ilt

kunne de forhindre Bakterierne i at udvikle sig; den benyttede Næringsvædske og Temperatur er vel gunstig for de fleste Bakteriers Udvikling, dog ikke for alles; der bliver følgelig et Mindretal, som unddrager sig Opmærksomheden.

Jeg opfatter disse Fejlkilder som meget alvorlige, og navnlig fordi det ikke er muligt at bestemme deres Omfang. Miquel selv ser lysere paa Sagen og tilskriver dem ikke stor Betydning. Den væsentligste Indvending staar imidlertid tilbage: Hvorledes vil Miquel altid kunne afgjøre, om han har een eller flere Bakterie-Arter for sig? Paa Videnskabens nuværende Standpunkt er det en Umulighed. Hans egne Beskrivelser aflægge ogsaa et tydeligt Vidnesbyrd herom. Alene herved tabes imidlertid den ene af de to for Regnestykket nødvendige Faktorer, og de opførte Tal blive upaalidelige. Vi maa altsaa betragte hans Forsøg som mislykket. Denne Afhandling indeholder dog, ligesom hans foroven omhandlede, aandrige Betragtninger og almindelige Sætninger, der i flere Retninger paa en betydningsfuld Maade belyse det interessante Emne. I Overensstemmelse med sine tidligere Undersøgelser fandt han, at Antallet af Atmosfærens Bakterier, der er ringe om Vinteren, i Almindelighed vedbliver at være stort om Sommeren og hurtigt aftager ved Efteraarets Slutning. I Modsætning til, hvad der finder Sted hos Skimmelsvampene, er det ringe i de regnfulde Perioder, men forøges naar Jordbunden udtørres. Dette hidrører imidlertid ikke derfra, at Regnen kun er gunstig for Skimmelsvampenes og derimod ugunstig for Bakteriernes Udvikling. Den fremkalder nemlig i begge Tilfælde regelmæssig en livligere Vegetation. Men medens de førstnævnte frembringe Fruktifikationsorganer, der fra den fugtige Bund hæve sig op i Luften, saa at deres Konidier og Sporer med Vinden let kunne føres omkring, er dette derimod ikke Tilfældet med Bakterierne; de vedblive nemlig under alle Udviklingstrin at være mere eller mindre nedsænkede i deres fugtige Næringssubstrat; først naar dette udtørres og i Forening med dets Beboere bliver til Støv, kunne de af Vindene blive hvirvlede op i Luften og førte omkring. Ved at sammenligne Luftens Bakterieindhold inde og ude, fandt Miquel, at det i hans Laboratorium kun var tre Gange saa stort som i Parken ved Montsouris, hvorimod det i Hôtel-Dieu's medicinske Sale var omtrent 69 Gange større end paa det sidstnævnte Sted. Han fremhæver atter, at Antallet af Bakterier i Luften i Kloakkanalerne var meget ringere end de nævnte Hospitalssale. Altsaa et Resultat, aldeles modsat det, hvortil Cohn og Miflet kom ved deres Undersøgelser i Breslau. I et vist Rumfang Regn- eller Drikkevand, siger han, findes som Regel 4—500,000

Gange flere Bakterier end i et tilsvarende Rumfang atmosfærisk Luft. Ifølge det Foregaaende kunne vi ikke skjænke disse Talstørrelser stor Opmærksomhed, men de giver os dog maaske en Forestilling om Forholdene i deres Hovedtræk. De Bakterier, som Miquel opfangede i Montsouris og i de omtalte Hospitalssale og Kloakkanaler, bleve inokulerede i Dyr, men uden i et eneste Tilfælde at fremkalde nogen Sygdom. Han imødegaar stærkt den Vildfarelse, der efterhaanden har sneget sig ind i Videnskaben, nemlig at Bakteriernes Kim skulde kunne forlade den fugtige Næringsbund, hvori de findes, førend dennes fuldstændige Udtørring, og han fremhæver, at Dampene, som stige op fra de mest urene Vædsker eller fra uren fugtig Jordbund, bestandig ere frie for Kim. De interessante, rent hygiejniske Betragtninger, der findes i Afhandlingens Slutning, f. Ex. om Karbolsyrens Anvendelse af Kirurgerne, ligge for langt borte fra min Opgave, til at de her kunne finde Plads.

I Slutningen af 1881 er der udkommen en Afhandling om Methoder til Undersøgelse af pathogene Organismer af Robert Koch[1]). Han anbefaler heri meget at benytte fast Næringssubstrat (navnlig Kartoffelskiver og Gelatine blandet med Næringsvædske) til Kulturforsøg. Gjennem nogle foreløbige Experimenter kom han ogsaa til det Resultat, at Gelatine med Hvedeinfus danner en god Næringsbund for Luftens Mikroorganismer i Almindelighed, og at man ved paa en passende Maade at udsætte det omtalte Substrat for den direkte Paavirkning af Luften, da herved vil have et godt Middel til at foretage Analyser af de i denne indeholdte spiredygtige Kim.

De nye Undersøgelser, hvorom jeg her fremlægger en Meddelelse, danne en Fortsættelse af Undersøgelserne fra 1878, der, som ovenfor angivet, udkom 1879; de bleve udførte samtidig med de i det Foregaaende omtalte Arbejder fra Udlandet. I Modsætning til disse har deres Hovedopgave ikke været at tjene hygiejniske Formaal, men Bryggeriindustrien og Gjæringsfysiologien. Et af de Bidrag, som de i sidstnævnte Retning have ydet, findes omtalt i min Afhandling om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i Naturen (Tidsskriftets 3die Hefte p. 293—328). I det andet Afsnit af nærværende Meddelelse findes andre Bidrag af lignende Art,

---

[1]) Robert Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. (Separat-Abdruck aus den Mittheilungen des Kaiserlichen Gesundheits-Amtes. Band. I. Berlin 1881. p. 32—34).

og jeg har her tillige søgt at paavise, hvilke Oplysninger Bryggeriindustrien kan uddrage af saadanne Studier. Jeg tror dog ogsaa, at Analyserne ville kunne optages som et nyttigt Led i de Materialsamlinger til Studiet over Luftens Mikroorganismer, der udarbejdes med Hensyn til hygiejniske Forhold.

Mine Undersøgelser adskille sig endvidere fra de andre derved, at de kun ere knyttede til en eneste Næringsvædske, nemlig steriliseret Humleurt, som den almindelig bruges i Bryggeriet, hvilket atter staar i nøje Forhold til min Opgaves Natur.

Foruden de i den første Meddelelse p. 188 omtalte Kogeflasker benyttede jeg desuden cylindriske Bægerglas med vid Munding, som hver rummede 1 Liter; ligesom Flaskerne vare de c. ²/₃ fyldte med Næringsvædsken og bleve ligesom disse overbundne med Flor og med Filtrerpapir. (Om Fremgangsmaaden se Tidsskriftets 2det Hefte p. 188 og 189). Jeg erfarede dog snart, at Kogeflaskerne svarede bedre til Hensigten end Bægerglassene. Efter en stor Maalestok har jeg endvidere anvendt Vakuums-Kolber. De vare betydelig større end de i den første Meddelse p. 189 omtalte, idet de nemlig hver rummede c. ½ Liter. Heri blev der anbragt c. 150 Kub.-Cent. af Næringsvædsken. Under dennes Kogning bleve de lukkede først med en Schellaksprop og derefter med en overgribende Hætte af Münchenerlak. Denne Maade at lukke dem paa, fandt jeg efterhaanden var den mest praktiske og at foretrække fremfor at tilsmelte dem eller at lukke dem ved Hjælp af Kautschukslange og Klemhane. Lidt indenfor Spidsen blev der skaaret en Skure i Røret, for at man lettere kunde afbryde det yderste Parti, naar Kolben skulde aabnes. Hver indsugede c. 350 Kub.-Cent. Luft. I Begyndelsen benyttede jeg baade Kolber med ret og med bøjet Hals (se Fig. 1—2). Den sidstnævnte blev efter Aabningen enten slet ikke lukket eller kun forsynet med en Asbestprop. Jeg antog, at den vilde give en rigere Vegetation end den førstnævnte, men da det ikke blev Tilfældet, anvendte jeg senere

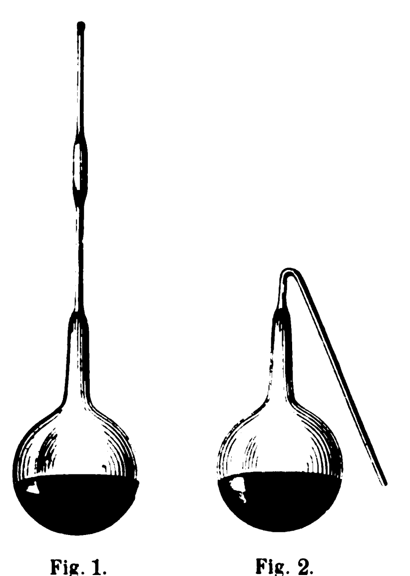


Fig. 1. Fig. 2.

udelukkende Kolber som Fig. 1. Udvidelsen af Røret er tilstede af Sparsommeligheds-Hensyn, nemlig for paany at kunne forlænge det, naar den øverste Del ved gjentagne Aabninger er knækket af. I de Tilfælde, hvor der optræder rige Vegetationer, navnlig af Skimmel, maa Kolben naturligvis aabnes forneden i Halsens tykke Grunddel, og hertil gjør Glaskniven god Nytte. Efterat Kolberne havde suget sig fulde af Luft paa det paagjældende Sted, bleve de lukkede med Lakprop og derpaa godt rystede for at nedskylle de i Røret og paa Glassets Vægge muligvis hængende Støvpartikler. Indsugede Sporer kunne nemlig undertiden blive klæbede fast til Væggen oven over Vædsken, og hvis de ikke føres ned i denne, saa ville de enten slet ikke udvikle sig eller undertiden først efter Maaneders Forløb, naar Kolben tilfældigvis bliver rystet, og de herved komme i Berøring med Vædsken. Fordampning inde i Kolben vil vel ogsaa under disse Forhold kunne fremkalde en sen Spiring. Naar Kolberne, Flaskerne og Bægerglassene vare blevne paavirkede af Luften, som jeg ønskede, og derpaa lukkede, bleve de anbragte paa Hylder i Arbejdsværelset, hvor de stode saa lang Tid, at jeg, gaaende ud fra tidligere Erfaring, kunde vide, at nye Former derefter ikke vilde udvikle sig. Herpaa fandt den mikroskopiske Undersøgelse Sted. Kolbernes længste Prøvetid var 6 Uger. Grunden til, at jeg ikke som tidligere benyttede Thermostaten, var dels den, at jeg ikke fandt den nødvendig, og dels at den ikke vilde have kunnet rumme det store Antal Kolber, Flasker og Bægerglas, som bleve anvendte. Det vil her ikke være overflødigt at bemærke, at Urten godt kan holde sig klar og brun, uden dog at være fri for Infektion. Som jeg nemlig har omtalt i en tidligere Afhandling, findes der flere Former, som kunne udvikle endog en livlig Vegetation i denne Vædske, uden i de nævnte Retninger at forandre den. Ved senere Iagttagelser er min Liste over disse bleven forøget. Hertil høre: Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Mucor, endvidere de to hindedannende Bakterier, Mycoderma aceti og Myc. Pasteurianum samt den ligeledes hindedannende Gjærsvamp, Saccharomyces Mycoderma. Det er naturligvis forholdsvis let at se, om der paa vedkommende Vædskers Overflade har udviklet sig en Hinde eller ej, og forsaavidt vil man ikke let blive narret af de tre sidstomtalte Arter, men med Hensyn til Skimmelsvampene kan Forholdet stille sig meget vanskeligere; de kunne nemlig i Vædskens nederste Del, i det Bundfand, som den kogte Urt altid efter nogen Henstand afsætter, danne mindre Mycelieklumper, ofte i Form af smaa Polyper, som man let kan overse, naar man ikke tidligere har faaet Op-

mærksomheden henvendt paa dem. For at opdage dem, maa man holde Kolben saaledes op mod Lyset, at dette trænger ovenfra ned gjennem Vædsken.

Vakuums-Kolberne ere i flere Retninger et udmærket Hjælpemiddel ved Undersøgelser som de foreliggende. Man kan ved Hjælp af dem med forholdsvis stor Sikkerhed netop opfange de Mikroorganismer, der findes i Luften paa det paagjældende Punkt, saaledes, at fremmed Indblanding undgaas. De yde fuldstændig Sikkerhed for, at alle de Mikroorganismer, der findes i det indsugede, i Forvejen bestemte Rumfang Luft, virkelig erholdes, hvilket derimod, som allerede ovenfor berørt, ikke er Tilfældet, naar Aspirationsmethoden anvendes. Erfaringen har endvidere vist, at man ved at benytte dem, ogsaa faar, hvad Miquel i sine Aspirationsforsøg kalder en fraktioneret Udsaaning, idet nemlig den indsugede Luftmængde er saa ringe, at en ofte betydelig Del af dem efter Aabningen ikke blive inficerede, og at der iblandt dem, som inficeres, hyppigt optræde Renkulturer; 3 eller 4 Arter i een Kolbe høre til de meget sjældne Tilfælde. Man er altsaa ved at anvende dem forholdsvis lidet udsat for de Skuffelser, som opstaa deraf, at der i vedkommende Næringsvædske føres en levende Kamp for Tilværelsen imellem en større Række af forskjellige Organismer, hvoraf de svage tilsidst kunne blive trængte saaledes tilbage, at de, naar Undersøgelsen finder Sted, slet ikke iagttages. At der ogsaa klæber Mangler derved følger af sig selv. Man faar f. Ex. paa denne Maade kun Besked om Luftens Indhold af mikroskopiske Væsener i et kort Tidsrum og i et ringe Rumfang af Luften. For at bøde noget herpaa blev der, som foran berørt, til mine nye Undersøgelser anvendt større Kolber end dem, jeg tidligere havde benyttet. Der blev endvidere aabnet et forholdsvis stort Antal af dem; i nogle Forsøgsrækker f. Ex. indtil 80 i Løbet af et Par Timer. Kogeflaskerne danne et nyttigt Supplement, idet de bestandig, naar de udsættes i en passende Tid (i de efterfølgende Forsøg 48 Timer) for Luftens direkte Paavirkning, give en rig Høst. Grunden til, at jeg ikke benyttede dem i de undersøgte Bryggerilokaler, er, at de her, hvor saa mange Arbejdere færdes i de snævre Rum, ikke let finde en Plads, hvor der er nogen Sikkerhed for, at de kunne staa i Ro. De yde overhovedet ikke den Betryggelse som Kolberne og ere derfor ogsaa i det Frie kun blevne benyttede i Forening med disse. Den Fremgangsmaade, jeg har anvendt, synes efter den omtrent 3-aarige Erfaring, Laboratoriet nu har erholdt, at egne sig bedst, naar der samtidig skal tages Prøver paa forskjellige Punkter. Ønsker man derimod i

Gange flere Bakterier end i et tilsvarende Rumfang atmosfærisk Luft. Ifølge det Foregaaende kunne vi ikke skjænke disse Talstørrelser stor Opmærksomhed, men de giver os dog maaske en Forestilling om Forholdene i deres Hovedtræk. De Bakterier, som Miquel opfangede i Montsouris og i de omtalte Hospitalssale og Kloakkanaler, bleve inokulerede i Dyr, men uden i et eneste Tilfælde at fremkalde nogen Sygdom. Han imødegaar stærkt den Vildfarelse, der efterhaanden har sneget sig ind i Videnskaben, nemlig at Bakteriernes Kim skulde kunne forlade den fugtige Næringsbund, hvori de findes, førend dennes fuldstændige Udtørring, og han fremhæver, at Dampene, som stige op fra de mest urene Vædsker eller fra uren fugtig Jordbund, bestandig ere frie for Kim. De interessante, rent hygiejniske Betragtninger, der findes i Afhandlingens Slutning, f. Ex. om Karbolsyrens Anvendelse af Kirurgerne, ligge for langt borte fra min Opgave, til at de her kunne finde Plads.

I Slutningen af 1881 er der udkommen en Afhandling om Methoder til Undersøgelse af pathogene Organismer af Robert Koch[1]). Han anbefaler heri meget at benytte fast Næringssubstrat (navnlig Kartoffelskiver og Gelatine blandet med Næringsvædske) til Kulturforsøg. Gjennem nogle foreløbige Experimenter kom han ogsaa til det Resultat, at Gelatine med Hvedeinfus danner en god Næringsbund for Luftens Mikroorganismer i Almindelighed, og at man ved paa en passende Maade at udsætte det omtalte Substrat for den direkte Paavirkning af Luften, da herved vil have et godt Middel til at foretage Analyser af de i denne indeholdte spiredygtige Kim.

De nye Undersøgelser, hvorom jeg her fremlægger en Meddelelse, danne en Fortsættelse af Undersøgelserne fra 1878, der, som ovenfor angivet, udkom 1879; de bleve udførte samtidig med de i det Foregaaende omtalte Arbejder fra Udlandet. I Modsætning til disse har deres Hovedopgave ikke været at tjene hygiejniske Formaal, men Bryggeriindustrien og Gjæringsfysiologien. Et af de Bidrag, som de i sidstnævnte Retning have ydet, findes omtalt i min Afhandling om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i Naturen (Tidsskriftets 3die Hefte p. 293—328). I det andet Afsnit af nærværende Meddelelse findes andre Bidrag af lignende Art,

---

[1]) Robert Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. (Separat-Abdruck aus den Mittheilungen des Kaiserlichen Gesundheits-Amtes. Band. I. Berlin 1881. p. 32—34).

og jeg har her tillige søgt at paavise, hvilke Oplysninger Bryggeriindustrien kan uddrage af saadanne Studier. Jeg tror dog ogsaa, at Analyserne ville kunne optages som et nyttigt Led i de Materialsamlinger til Studiet over Luftens Mikroorganismer, der udarbejdes med Hensyn til hygiejniske Forhold.

Mine Undersøgelser adskille sig endvidere fra de andre derved, at de kun ere knyttede til en eneste Næringsvædske, nemlig steriliseret Humleurt, som den almindelig bruges i Bryggeriet, hvilket atter staar i nøje Forhold til min Opgaves Natur.

Foruden de i den første Meddelelse p. 188 omtalte Kogeflasker benyttede jeg desuden cylindriske Bægerglas med vid Munding, som hver rummede 1 Liter; ligesom Flaskerne vare de c. $^{2}/_{3}$ fyldte med Næringsvædsken og bleve ligesom disse overbundne med Flor og med Filtrerpapir. (Om Fremgangsmaaden se Tidsskriftets 2det Hefte p. 188 og 189). Jeg erfarede dog snart, at Kogeflaskerne svarede bedre til Hensigten end Bægerglassene. Efter en stor Maalestok har jeg endvidere anvendt Vakuums-Kolber. De vare betydelig større end de i den første Meddelse p. 189 omtalte, idet de nemlig hver rummede c. $^{1}/_{2}$ Liter. Heri blev der anbragt c. 150 Kub.-Cent. af Næringsvædsken. Under dennes Kogning bleve de lukkede først med en Schellaksprop og derefter med en overgribende Hætte af Münchenerlak. Denne Maade at lukke dem paa, fandt jeg efterhaanden var den mest praktiske og at foretrække fremfor at tilsmelte dem eller at lukke dem ved Hjælp af Kautschukslange og Klemhane. Lidt indenfor Spidsen blev der skaaret en Skure i Røret, for at man lettere kunde afbryde det yderste Parti, naar Kolben skulde aabnes. Hver indsugede c. 350 Kub.-Cent. Luft. I Begyndelsen benyttede jeg baade Kolber med ret og med bøjet Hals (se Fig. 1—2). Den sidstnævnte blev efter Aabningen enten slet ikke lukket eller kun forsynet med en Asbestprop. Jeg antog, at den vilde give en rigere Vegetation end den førstnævnte, men da det ikke blev Tilfældet, anvendte jeg senere

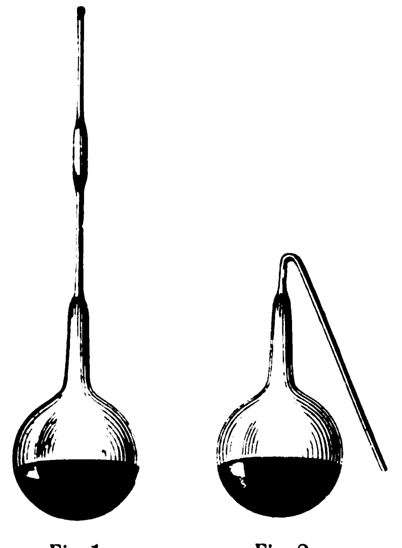


Fig. 1. Fig. 2.

udelukkende Kolber som Fig. 1. Udvidelsen af Røret er tilstede af Sparsommeligheds-Hensyn, nemlig for paany at kunne forlænge det, naar den øverste Del ved gjentagne Aabninger er knækket af. I de Tilfælde, hvor der optræder rige Vegetationer, navnlig af Skimmel, maa Kolben naturligvis aabnes forneden i Halsens tykke Grunddel, og hertil gjør Glaskniven god Nytte. Efterat Kolberne havde suget sig fulde af Luft paa det paagjældende Sted, bleve de lukkede med Lakprop og derpaa godt rystede for at nedskylle de i Røret og paa Glassets Vægge muligvis hængende Støvpartikler. Indsugede Sporer kunne nemlig undertiden blive klæbede fast til Væggen oven over Vædsken, og hvis de ikke føres ned i denne, saa ville de enten slet ikke udvikle sig eller undertiden først efter Maaneders Forløb, naar Kolben tilfældigvis bliver rystet, og de herved komme i Berøring med Vædsken. Fordampning inde i Kolben vil vel ogsaa under disse Forhold kunne fremkalde en sen Spiring. Naar Kolberne, Flaskerne og Bægerglassene vare blevne paavirkede af Luften, som jeg ønskede, og derpaa lukkede, bleve de anbragte paa Hylder i Arbejdsværelset, hvor de stode saa lang Tid, at jeg, gaaende ud fra tidligere Erfaring, kunde vide, at nye Former derefter ikke vilde udvikle sig. Herpaa fandt den mikroskopiske Undersøgelse Sted. Kolbernes længste Prøvetid var 6 Uger. Grunden til, at jeg ikke som tidligere benyttede Thermostaten, var dels den, at jeg ikke fandt den nødvendig, og dels at den ikke vilde have kunnet rumme det store Antal Kolber, Flasker og Bægerglas, som bleve anvendte. Det vil her ikke være overflødigt at bemærke, at Urten godt kan holde sig klar og brun, uden dog at være fri for Infektion. Som jeg nemlig har omtalt i en tidligere Afhandling, findes der flere Former, som kunne udvikle endog en livlig Vegetation i denne Vædske, uden i de nævnte Retninger at forandre den. Ved senere Iagttagelser er min Liste over disse bleven forøget. Hertil høre: Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Mucor, endvidere de to hindedannende Bakterier, Mycoderma aceti og Myc. Pasteurianum samt den ligeledes hindedannende Gjærsvamp, Saccharomyces Mycoderma. Det er naturligvis forholdsvis let at se, om der paa vedkommende Vædskers Overflade har udviklet sig en Hinde eller ej, og forsaavidt vil man ikke let blive narret af de tre sidstomtalte Arter, men med Hensyn til Skimmelsvampene kan Forholdet stille sig meget vanskeligere; de kunne nemlig i Vædskens nederste Del, i det Bundfand, som den kogte Urt altid efter nogen Henstand afsætter, danne mindre Mycelieklumper, ofte i Form af smaa Polyper, som man let kan overse, naar man ikke tidligere har faaet Op-

mærksomheden henvendt paa dem. For at opdage dem, maa man holde Kolben saaledes op mod Lyset, at dette trænger ovenfra ned gjennem Vædsken.

Vakuums-Kolberne ere i flere Retninger et udmærket Hjælpemiddel ved Undersøgelser som de foreliggende. Man kan ved Hjælp af dem med forholdsvis stor Sikkerhed netop opfange de Mikroorganismer, der findes i Luften paa det paagjældende Punkt, saaledes, at fremmed Indblanding undgaas. De yde fuldstændig Sikkerhed for, at alle de Mikroorganismer, der findes i det indsugede, i Forvejen bestemte Rumfang Luft, virkelig erholdes, hvilket derimod, som allerede ovenfor berørt, ikke er Tilfældet, naar Aspirationsmethoden anvendes. Erfaringen har endvidere vist, at man ved at benytte dem, ogsaa faar, hvad Miquel i sine Aspirationsforsøg kalder en fraktioneret Udsaaning, idet nemlig den indsugede Luftmængde er saa ringe, at en ofte betydelig Del af dem efter Aabningen ikke blive inficerede, og at der iblandt dem, som inficeres, hyppigt optræde Renkulturer; 3 eller 4 Arter i een Kolbe høre til de meget sjældne Tilfælde. Man er altsaa ved at anvende dem forholdsvis lidet udsat for de Skuffelser, som opstaa deraf, at der i vedkommende Næringsvædske føres en levende Kamp for Tilværelsen imellem en større Række af forskjellige Organismer, hvoraf de svage tilsidst kunne blive trængte saaledes tilbage, at de, naar Undersøgelsen finder Sted, slet ikke iagttages. At der ogsaa klæber Mangler derved følger af sig selv. Man faar f. Ex. paa denne Maade kun Besked om Luftens Indhold af mikroskopiske Væsener i et kort Tidsrum og i et ringe Rumfang af Luften. For at bøde noget herpaa blev der, som foran berørt, til mine nye Undersøgelser anvendt større Kolber end dem, jeg tidligere havde benyttet. Der blev endvidere aabnet et forholdsvis stort Antal af dem; i nogle Forsøgsrækker f. Ex. indtil 80 i Løbet af et Par Timer. Kogeflaskerne danne et nyttigt Supplement, idet de bestandig, naar de udsættes i en passende Tid (i de efterfølgende Forsøg 48 Timer) for Luftens direkte Paavirkning, give en rig Høst. Grunden til, at jeg ikke benyttede dem i de undersøgte Bryggerilokaler, er, at de her, hvor saa mange Arbejdere færdes i de snævre Rum, ikke let finde en Plads, hvor der er nogen Sikkerhed for, at de kunne staa i Ro. De yde overhovedet ikke den Betryggelse som Kolberne og ere derfor ogsaa i det Frie kun blevne benyttede i Forening med disse. Den Fremgangsmaade, jeg har anvendt, synes efter den omtrent 3-aarige Erfaring, Laboratoriet nu har erholdt, at egne sig bedst, naar der samtidig skal tages Prøver paa forskjellige Punkter. Ønsker man derimod i

længere Tid at undersøge Luften kun paa et og samme Sted, vil Cohn's nylig omtalte Aspirator, uagtet de Mangler der klæbe ved den, dog vistnok være mest hensigtsmæssig, især naar man hertil knytter Miquel's forbedrede Fremgangsmaade. Til Undersøgelser i Gjæringskjældere, Lagerkjældere o. s. v., hvor Pladsen tillader at opstille et saadant Apparat, vil det kunne anbefales.

Prøverne af Luften bleve tagne i Carlsberg's Have under Vinrankerne og under Kirsebærtræerne; endvidere i Bryggeriet Gl. Carlsberg's Undergjæringskjælder, i et andet Bryggeri N's Undergjæringskjældere A, E og I, i et tredie Bryggeri M's Undergjæringskjælder, i Gl. Carlsberg's pneumatiske Maltgjøreri samt i Maskdampene i samme Bryggeris Gaard, bestandig saavidt mulig paa de samme Punkter. Vinrankerne findes temmelig nær Bryggeribygningerne, sønden og østen for disse; ved en Mur ere de beskjermede mod Luftstrømme fra Nord; Kirsebærtræerne staa derimod et godt Stykke østen for Bygningerne i den store Have, der er rig paa Frugttræer og andre Planter. Haven støder mod Syd ud til aabne Marker. Disse korte Oplysninger meddeles for at give en Forestilling om, hvad de forskjellige Vinde kunne føre med sig. Luften i Gjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg afkjøles ved Hjælp af Ismaskiner, og førend den faar Lov til at strømme ud, renses den desuden i et Regnbad, der er mættet med Klornatrium. Til Maltkjælderen blev Luften gjennem en Gang indsuget udenfra og passerede derpaa et Kokesfilter, hvorover et Regnbad med almindeligt Vand strømmede ned. Det er i denne ydre Gang og i selve Maltgjøreriet tæt ved Regnbadet, hvor den filtrerede Luft strømmede ind i Lokalet, at Undersøgelserne ere foretagne. Bryggerierne N's og M's Gjæringskjældere ere efter almindeligt Mønster. De udførte Analyser strække sig over henved 3 Aar; de i den første Meddelelse publicerede omfatte Tidsrummet fra 1 Maj 1878 til Aarets Slutning; i 1879 bleve de gjenoptagne i Juni og fortsatte med al den Kraft, der stod til Laboratoriets Raadighed, indtil den første Halvdel af Decbr. 1880. 1881 er der kun blevet udført en mindre Række Analyser, nemlig i et Bryggeri M's Undergjæringskjælder og i Gl. Carlsberg's pneumatiske Maltgjøreri. Impulsen til dette Arbejde er, som allerede nævnt i den første Meddelelse, udgaaet fra Laboratoriets Stifter, Hr. Kaptajn Jacobsen. Spørgsmaalet om, hvorvidt Maskdampene indeholde skadelige Fermentorganismer eller ej, blev i 1878 stillet af Hr. Brygger Kogsbølle, men kunde da ikke afgjøres. I det Følgende findes Besvarelsen. Bemærkningerne om Vejrliget og Temperaturen i Haven skyldes ligesom tidligere den af Carlsberg's Gartner, Hr. A. N. Hansen,

førte Dagbog. Thermometret stod som forhen c. 2 Alen over Jorden i en Trækasse og var i Skygge. Analyserne findes i det foreliggende Arbejde til Slutningen som et Bilag; forøvrigt er Stoffet væsentlig ordnet paa samme Maade som i den første Meddelelse.

Resultater.

De Spørgsmaal, der i Undersøgelserne fra 1878 bleve belyste, fremdrages her atter, for at det kan ses, hvorledes de stille sig, naar de sammenholdes med de nye Analyser. Der bliver dog ogsaa draget Synspunkter frem, hvortil den første Meddelelse intet Hensyn kunde tage.

I sin Bog om Øllet og dets Sygdomme har Pasteur fremhævet, at Luften paa forskjellige nærliggende Punkter kan til samme Tid indeholde ikke blot et forskjelligt Antal Organismer, men tillige Organismer af forskjellig Art, saa at Former, der optræde paa det ene Sted, ikke findes paa det andet. Disse Undersøgelser bleve foretagne ved Hjælp af Vakuums-Kolber i Haven ved l'école normale og i forskjellige Værelser af denne Bygning. Mine efterfølgende Analyser fra 1879 og 1880 bekræfte paany dette, og de vise desuden, ligesom de tidligere fra 1878, at saadant ikke blot gjælder om Luften i de forskjellige fra hverandre afgrændsede Lokaler, men tillige om nærliggende Punkter i Haven. Meget tydelig ses dette f. Ex. af den 48de, 18de og 20de Forsøgsrække. De to sidstnævnte Rækker vise desuden det Forhold, at Organismer, som under Kirsebærtræerne vare almindelige 3die—5te Juli, derimod manglede den 23de—25de i samme Maaned. Megen Omskiften hersker overhovedet, og Forholdene kunne vexle saaledes, at hvad der tidligere fandtes f. Ex. kun under Kirsebærtræerne og ikke under Vinrankerne, nu netop omvendt findes paa det sidstnævnte og ikke paa det førstnævnte Sted. Saaledes optraadte Oidium lactis 23de Juli—27de August 1879 kun under Kirsebærtræerne, derimod 1ste—3die Juni 1880 kun under Vinrankerne, og atter 1ste—3die Septbr. kun under Kirsebærtræerne. Denne alt andet end jævne Fordeling af Mikroorganismerne i Luften træder frem i enhver Række, ogsaa i Forsøgene med Vakuums-Kolberne. Betragte vi f. Ex. de Vegetationer, der fremkom, efter at de i den 50de Forsøgsrække anvendte 80 Kolber vare blevne aabnede, da finde vi ikke blot, at Luften paa de undersøgte Punkter (Vinrankerne og Kirsebærtræerne i Haven, Gl. Carlsberg's Undergjæringskjælder, sammes pneumatiske Maltgjøreri og Gangen dertil samt Bryggeriet N's Undergjæringskjældere) har indeholdt forskjellige

Organismer og i forskjelligt Mængdeforhold, saa at de nævnte Lokaliteter derved have frembudt større eller mindre Differenser, men vi se tillige, at endog de paa samme Punkt og næsten til samme Tid aabnede Kolber godt kunne erholde et forskjelligt Indhold.

Forsøgene med Kolberne lære os endvidere, at Luftens Mikroorganismer kunne optræde i Grupper og Skyer, hvilket vi jo ogsaa fra den daglige Erfaring vide deraf, at hele Støvmasser kunne hvirvles op fra Jorden, fra udtørrede, skimlede og raadne organiske Substanser. At der i Luften findes kimfrie Mellemrum følger deraf, at flere af de aabnede Kolber ikke bleve inficerede, og da nogle kun opfangede een Art, have vi al Grund til at antage, at der i det Mindste i flere Tilfælde kun er bleven indsuget en eneste Kim; heraf maa vi da atter drage den rimelige Slutning, at Mikroorganismerne kunne optræde spredte, enkeltvis i Lufthavet.

De avles ikke her, men have deres Arnesteder paa Jorden, hvor de udvikle og formere sig. Disse Arnesteders Antal og Tilstand betinge saaledes væsentlig Luftens Indhold i den nævnte Retning. Det skiftende Vejrlig spiller naturligvis ligeledes en vigtig Rolle, Varme og Fugtighed fremkalde regelmæssig en livligere Udvikling, medens Kulden derimod hæmmer denne, og de nævnte Faktorer have i Forening med Vinden, Insekterne o. s. v. desuden Betydning med Hensyn til Kimenes Udbredelse. Heraf vil det forstaas, at Aarstiderne vel i de store Træk udøve en bestemt Indflydelse, men at denne ikke altid kan vise sig tydelig, idet den ofte maa blive gjennemkrydset af et meget sammensat Spil af talrige andre Faktorer. Det indses endvidere, at vi godt i Nærheden af et Arnested for en eller anden Mikroorganisme kunne foretage Undersøgelser af Luftens Indhold, uden at de paagjældende Arter optræde i vore Prøver, medens dette derimod kan blive Tilfældet paa endog fjærnt derfra liggende Punkter. Omvendt kan Opfostringsstedets Nærhed give sig bestemt tilkjende, og naar man foretager et tilstrækkeligt Antal Analyser vil dette vistnok altid ske. Saadant ses meget tydeligt af 20de, 22de og 25de Forsøgsrække, i hvilke Saccharomyces apiculatus optræder i alle Prøverne fra Kirsebærtræerne, men enten slet ikke eller kun sparsomt i Prøverne fra Vinrankerne. Dette staar i nøje Overensstemmelse med, hvad der blev paavist i Afhandlingen om denne Art og dens Kredsløb i Naturen, nemlig at modne, søde og saftige Frugter ere de egentlige Opholds- og Opfostringssteder for den om Sommeren. Paa de Tider, i hvilke Analyserne til de foran nævnte tre Forsøgsrækker bleve udførte, havde Kirsebærtræerne ogsaa modne Frugter, som

fostrede talrige Generationer af den lille Gjærsvamp, medens Vindruerne enten ikke vare dannede eller endnu vare aldeles umodne. Heri haves overhovedet en Forklaring til den fremtrædende Forskjel, som fandtes imellem Luftens Mikroorganismer paa de to Punkter i Haven fra Slutningen af Juli til Slutningen af Aug. 1879 og i Begyndelsen af Septbr. 1880. Til de nævnte Tider optraadte der nemlig bestandig en betydelig større Mængde Alkoholgjærsvampe af Slægten Saccharomyces under Kirsebærtræerne end under Vinrankerne. I Overensstemmelse med det netop Udviklede gav Aargangen 1880 en mindre Høst af de nævnte Alkoholgjærsvampe end 1879. Carlsberg's Have var nemlig i 1880 fattig paa Frugter, navnlig fandtes der meget færre Stikkelsbær end i det foregaaende Aar.

Fra den første Meddelelse erindres det, at Pasteur har fremsat den Anskuelse, at Alkoholgjærsvampene ere forholdsvis sjældne i Luftens Støv. Rigtigheden heraf er tilfulde bleven bekræftet ved de Analyser, der ere udførte paa Carlsberg Laboratoriet. For at undgaa Misforstaaelser maa det fremhæves, at Talen foreløbig kun er om Analyserne af Luften i Haven. Forsøgene fra 1879 vise, at disse Organismer bleve almindeligere i Luftens Støv i Tiden fra Juni til Aug. inkl. saaledes, at den ved dem bevirkede Infektion naaede sit Maximum i Slutningen af August. Derefter fandt atter en Aftagen Sted; endnu i November optraadte de dog, nemlig Sacch. ellipsoideus og Sacch. apiculatus. I 1880 var denne Infektion rigeligst i August og September, saaledes at Maximum faldt i Begyndelsen af sidstnævnte Maaned. (Hertil slutte sig ogsaa Analyserne fra 1878). Deres spredte og meget sparsomme Optræden til de andre Tider af Aaret end de foran omtalte Sommermaaneder, maa betragtes som værende udenfor Hovedreglen. Naar f. Ex. en af Flaskerne i Februar 1880 blev inficeret med Saccharomyces-Arter, kan dette næppe opfattes paa anden Maade end som hidrørende fra Støv, der tilfældigvis er blevet ophvirvlet fra et Sted i Jorden, hvor de have havt Vinterleje.

Om Sacch. apiculatus har jeg i den omtalte Afhandling oplyst, at den regelmæssig overvintrer i Jorden. Herfra føres den navnlig ved Vindens Hjælp i tørre Perioder op paa Frugterne og overhovedet omkring i Luften; stærke Regnskyl kunne sprøjte den med Jorden op paa Plantedele; Insekter og andre Smaadyr kunne ligeledes spille en Rolle i den Retning (se p. 305). Der er megen Rimelighed for, at de andre Arter af samme Slægt gjennemløbe et lignende Kredsløb i Naturen. For at komme til Klarhed herover har jeg i de sidste Par Aar foretaget en ikke ubetydelig Række Undersøgelser. At Former, som vi nærmest maa bestemme

som Sacch. cerevisiæ, Sacch. Pastorianus og Sacch. ellipsoideus, kunne leve og formere sig paa søde, saftige Frugter er en bekjendt Sag, og dette er ogsaa blevet bekræftet ved mine Iagttagelser. Gjennem direkte Forsøg med de tre nylig nævnte Arter har jeg endvidere erfaret, at de, naar de om Efteraaret bleve anbragte i Jord i Urtepotter, som derpaa bleve nedgravede i Haven og uden nogen Beskjærmelse udsatte for det vexlende Vejrlig, da her holdt sig levende til næste Sommer. Heraf følger altsaa, at ogsaa andre Arter af Slægten Saccharomyces end Sacch. apiculatus kunne overvintre i Jorden; om denne imidlertid, ligesom for den sidstnævnte Art, er det normale Overvintringssted, er hermed dog ikke bevist. Ifølge det Foranstaaende have vi megen Grund til at antage, at der i Naturen i Almindelighed findes to Hovedkilder til Infektionen med de omtalte Alkoholgjærsvampe, nemlig Opfostringsstedet, som Frugterne danne, og Overvintringsstedet, Jorden[1]). For Carlsberg's Vedkommende maa man endvidere som tredie Kilde tilføje Bryggeriets Gjær. Sidstnævnte har dog vistnok kun paa eet Punkt gjort sig gjældende, nemlig i Bryggerigaarden, (Analyserne af Maskdampene), men forøvrigt har den havt liden eller slet ingen Indflydelse paa vore Forsøg; thi i modsat Fald maatte Sacch. cerevisiæ ogsaa om Vinteren hyppigere være optraadt i de udstillede Flasker. Af de to andre Kilder maa Opfostringsstedet især antages at have fremtrædende Betydning, og det har i Virkeligheden ogsaa vist sig at være Tilfældet. Derfor erholdt vi, som ovenfor anført, den rigeste Høst af Saccharomyces-Arterne i Frugttiden, nemlig i August og September.

Det er de samme to Maaneder, i hvilke Bakterierne ogsaa optraadte i størst Mængde. Denne Periode bliver saaledes paa Grund af dens store Rigdom paa Bakterier og vilde Gjærformer den farligste hele Aaret igjennem for Bryggerierne; navnlig danne de aabne Svalebakker meget udsatte Steder, ad hvilke let Forstyrrelser kunne snige sig ind.

Mikroorganismerne, der med Luftens Støv kunne komme i Urten og her udvikle sig, henføres ret passende til tre Hoved-

---

[1]) Boutroux har fornylig udgivet en Afhandling, der har megen Interesse for disse Undersøgelser. (Sur l'habitat et la conservation des levûres spontanées. Extrait du Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie. 3 série, VI volume). Heri meddeles blandt Andet. at Alkoholgjærsvampene tilbringe Tiden fra Vinterens Slutning, til Frugterne ere blevne modne, i nektarholdige Blomster, og at Insekterne spille en Hovedrolle ved at føre dem omkring. Der gives imidlertid ingen Oplysning om, hvorvidt de i nogen væsentlig Grad formere sig i Blomsterne, og dette er vel ogsaa næppe rimeligt.

grupper: Saccharomyces-Arterne, Bakterierne og Skimmelsvampene. Den Orden, hvori de nævnes, betegner Graden i deres Hyppighed, saaledes at Saccharomyces-Arterne ere de sjældneste og Skimmelsvampene de almindeligste. Bakterier fandtes vel oftere og i større Mængde end Saccharomyces-Arter, men kunne dog ingenlunde siges at være hyppige; i flere af de Forsøgsrækker, hvor Vakuums-Kolber bleve anvendte, optraadte de f. Ex. ikke.

Iblandt Skimmelformerne vare Cladosporium herbarum og Dematium pullulans særlig fremtrædende, efter dem kom Penicillium glaucum; sjældnere vare Botrytis cinerea, Mucor racemosus, Mucor stolonifer og Oidium lactis; kun sparsomt og meget sjældent optraadte Eurotium Aspergillus glaucus, Aspergillus fumigatus, Penicillium cladosporioides og endvidere tre Arter, der nærmest maa henføres til Slægterne Monilia, Dendrodochium og Arthrobotrys. Det maa atter erindres, at der fra p. 396 kun har været Tale om Luften i Haven, og at Analyserne kun ere udførte med en eneste Næringsvædske, nemlig Ølurt. I Fald der var blevet anvendt andre, f. Ex. Kjødextrakt, som Miquel benyttede, vilde ogsaa Resultaterne være blevne anderledes. En Oversigtstabel over de Organismer, som optraadte paa de to Punkter i Haven, viser os, at det begge Steder er de samme Former, der i Almindelighed have været fremherskende, skjøndt der, som allerede anført, bestandig var Differenser tilstede i de enkelte Analyser, baade i Henseende til de optrædende Formers Art og Mængdeforhold. Under Vinrankerne fandtes følgende, som ikke iagttoges under Kirsebærtræerne: Aspergillus fumigatus, Penicillium cladosporioides, gjærsvampelignende Celler, der havde nogen Lighed med Chalara Mycoderma (se Beskrivelsen p. 411) og Bacterium pyriforme. De efterstaaende iagttoges derimod kun under Kirsebærtræerne: De foran berørte Monilia- og Dendrodochiumformer, Bacterium Kochii og Bacterium Carlsbergense. Ingen af disse vare hyppige, men de fandtes tvertimod alle uden Undtagelse meget sparsomt og ingenlunde saaledes, at de kunne siges at være knyttede til vedkommende Sted; deres Optræden viser sig kort sagt mere som en Tilfældighed end som en Regel, og der er Intet, der tyder paa, at de netop skulde have Arnested paa noget af de to nævnte Punkter.

Nedenfor gives en Fortegnelse over de Former, som paa hvert af de undersøgte Steder bleve iagttagne[1]).

[1]) Der er, som jeg andensteds tidligere har bemærket, noget Misligt ved at knytte bestemte systematiske Navne til endnu kun ufuldstændig kjendte Former, og under denne Kategori falde de fleste af

I Haven:

Eurotium Aspergillus glaucus, Aspergillus fumigatus, Penicillium glaucum, Penicillium cladosporioides, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullu-

---

de i den efterfølgende Fortegnelse nævnte. Kun følgende kunne vi nemlig med nogen Rimelighed antage at kjende tilnærmelsesvis fuldstændig: Eurotium Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Oidium lactis, Saccharomyces apiculatus og Bacillus subtilis. Endog om saa højt udviklede Arter som Cladosporium herbarum og Dematium pullulans er vor Viden meget mangelfuld, og vi have navnlig ingen klar Erkjendelse af deres Begrændsning overfor nærstaaende Former. I Bakteriernes og Gjærsvampenes Afdelinger ere Folholdene om muligt endnu dunklere. Desuagtet mener jeg, at det er rigtigt at benytte de systematiske Navne. De ere nemlig et ypperligt Hjælpemiddel til hos Læserne at fremkalde en Forestilling om den omhandlede Gjenstand, og uden dem vil det næppe være muligt i nogen Korthed at tale om Tingene.

For ogsaa for min Del at bøde Noget paa de mangelfulde Forarbejder, som i den nævnte Retning staa til vor Raadighed, har jeg i længere Tid særligt rettet mine Studier paa de fundamentale Spørgsmaal om Begrændsningen af Saccharomyces-Arterne. Pasteur meddeler i Études sur la bière, at de ere Udviklingsformer af dematiumagtige Skimmelsvampe: paa nogle Steder udtaler han dette som en afgjort Sag, paa andre derimod med et vist Forbehold. Hans Undersøgelser bevise imidlertid ikke det, de tilsigte. Det er især med Sacch. Pastorianus, at han har experimenteret; i Henhold til sin ovenfor berørte Opfattelse kalder han den »dematium levûre« og antager blandt Andet, at de i hans Fig. 28, Pl. X, XI og Fig. 33—37 afbildede ovale og meget langstrakte Celler høre til een Art, nemlig den netop nævnte. Gjennem mine Forsøg fandt jeg, at denne sidste Formodning er rigtig, og herfra tog jeg et af mine Udgangspunkter. Mit andet Udgangspunkt blev de saakaldte Askosporedannelser.

Idet jeg betegnede en af Pasteur's Anskuelser om Sacch. Pastorianus som rigtig, maa jeg dog hertil føje den Indskrænkning, at nogle af hans citerede Afbildninger ogsaa kunne forestille andre Arter end den, han sandsynligvis har tænkt paa. Der findes nemlig flere end een Art med de Egenskaber, som tilskrives Sacch. Pastorianus, og flere Arter, hvis »levûre aérobie« i Kultur med Ølurt netop bestaar af langstrakte Celler som de citerede. Det har overhovedet vist sig, at der gives en Gruppe af Gjærformer, som efter at have været underkastede en vis Behandling, hvorved de mere eller mindre udpines, herved faa Tilbøjelighed til at udvikle langstrakte Celler i Stedet for ovale, naar de overføres i gunstig Næringsvædske. Omvendt gives der nogle, som tvertimod under selve Udpiningen danne de ofte omtalte langstrakte Celler, og som efter at være komne i gunstig Næringsvædske, gaa tilbage til den ovale Form. De forskjellige Arter forholde

lans, Oidium lactis, en Art af Slægten Dendrodochium, en do. af Slægten Monilia, en do. af Slægten Arthrobotrys, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, chalaralignende Celler (se Beskrivelsen p. 411), rødfarvede, gjærsvampelignende Celler som de tidligere i Tidsskriftets 2det Hefte beskrevne, Tavle II, Fig. 1—37

sig i de nævnte Retninger forskjellig, og der haves heri værdifulde systematiske Karakterer.

Med Hensyn til Askosporedannelsen har man hidtil overset, at den Tid, der under forresten lige Dyrkningsforhold medgaar til Dannelsen af Askosporerne, yder et vigtigt Skjelnemærke til Bestemmelsen af Formerne. I Forsøg, hvortil Gibsblokke bleve anvendte, og som anstilledes ved almindelig Stuevarme, fandt jeg f. Ex., at Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ fra Bryggerierne Carlsberg og Tuborg i Kjøbenhavn samt fra L'ésperance i Schiltigheim først dannede Askosporer efter 5—7 Døgns Henstand og som Regel meget sparsomt. Overgjær fra et Bryggeri i Burton on Trent forholdt sig paa samme Maade; noget hurtigere indtraadte denne Udvikling hos Overgjær fra et Bryggeri i Edinborg, nemlig efter c. 4 Døgns Henstand, og da tilmed altid i rigelig Grad. Pressegjær fra Borchorst's Fabrik i Kjøbenhavn sluttede sig temmelig nær til den sidstnævnte. I Modsætning til disse Forsøg med Kulturgjær viste det sig, at nogle af de vilde Gjærformer under lignende Omstændigheder udvikler Askosporer alleiede i Løbet af 2—3 Døgn. Temperaturen spiller ved disse Dannelser en meget fremtrædende Rolle, dog ikke saaledes, som Reess havde tænkt sig; lav Temperatur begunstiger nemlig ikke, men hæmmer tværtimod denne Udvikling. Nedenstaaende Exempler vise dette. Den omtalte Overgjær fra Edinborg dannede saaledes Askosporer efter 18—21 Timers Kultur ved Temperaturer fra 28—34° C., efter 22 Timers Kultur ved 25° C. og efter 75 Timers Kultur ved 17° C. Ved 37 og ved 7° C. udvikles Askosporerne ikke. En af de Arter, der ere indbefattede under Pasteur's Sacch. Pastorianus, udviklede Askosporer efter 24—25 Timers Forløb ved Temperaturer fra 25—28° C., efter 35 Timer ved 17° C., efter 7 Døgn ved 7° og efter 14 Døgn ved 3° C. Ved 37° C. dannedes disse Formeringsorganer ikke. En anden Art, henhørende til samme Gruppe som den foregaaende, forholdt sig ved 25, 17, 7 og 3° C. hovedsagelig paa samme Maade som denne, men udviklede derimod ikke Askosporer ved 28° C. Disse Kulturer bleve ligesom de tidligere ogsaa udførte ved Hjælp af Gibsblokkene.

Underordnede Karakterer erholdes fra Fermentvirksomheden, Cellens kemiske Forhold, Sporernes Størrelse, Udseende o. s. v.

Ovenstaaende Undersøgelser bleve først gjennemførte i Februar 1882, kort førend Udgivelsen af nærværende Afhandling; de kunde altsaa ikke blive benyttede i dennes 3die Afsnit, Analyserne. I en udførligere Skikkelse ville de efterhaanden blive offentliggjorte i Fortsættelsen af mine »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«.

og Fig. 38—41, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus.

Bacillus subtilis, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme, Bact. Carlsbergense, Mycoderma aceti, smaa Stavbaktier.

I Gl. Carlsberg's Undergjæringskælder:

Penicillium glaucum, ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces cerevisiæ, smaa Stavbaktier.

I Gl. Carlsberg's pneumatiske Maltgjøreri:

Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignede Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Smaa Stavbakterier.

I Gangen udenfor Maltgjøreriet:

Penicillium glaucum, Penicillium cladosporioides, Cladosporium herbarum, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Smaa Stavbakterier.

I Bryggeriet N.'s Undergjæringskjældere:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. glutinis.

Smaa Stavbakterier, Sarcina.

I Maskdampene:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma.

Baciller, smaa Stavbakterier.

De Former, som iagttoges i 1878, fandtes ogsaa alle i 1879 og 1880; de nye, som de to sidstnævnte Aargange have bragt, udgjøre kun et ringe Antal og bestaa tilmed kun af saadanne, der

optraadte meget sjældent. Heraf tør det sluttes, at den foranstaaende Fortegnelse giver en tilnærmelsesvis fuldstændig Oversigt over de Mikroorganismer, der med Luftens Støv i Almindelighed kunne komme i Ølurt, og som her formaa at udvikle sig. Ved at gjennemgaa Fortegnelsen ses det, at alle de paa de 5 sidste Steder iagttagne Former ogsaa ere fundne i Haven, med Undtagelse af Sacch. glutinis og Sarcina. Disse iagttoges nemlig kun i Bryggeriet N.'s Kjælder A. Iblandt Bakterierne savnedes bestandig, ligesom i Miflet's Undersøgelser, Spiriller og Spirochæter. De Former, der blot fandtes i Luften i Haven, vare: Aspergillus fumigatus, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Oidium lactis, de tre Arter, henhørende til Slægterne Monilia, Dendrodochium og Arthrobotrys, de chalaralignende Celler, de rødfarvede, gjærsvampelignende Celler. (Nærværende Tidsskrifts 2det Hefte, Tavle II, Fig. 1—37 og Fig. 38—41) Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme og Bact. Carlsbergense.

Efter saaledes at have stiftet Bekendtskab navnlig med de Resultater, Analyserne fra Vinrankerne og Kirsebærtræerne bragte, skulle vi nu gaa over til at betragte vore Undersøgelser af Maskdampene. I selve Masken findes talrige Bakterier, dels Former som Bacillus subtilis, Mycoderma aceti og smaa Stavbakterier, dels Mikrokokker, ogsaa i Torulaform. Disse Organismer fremkalde sure Gjæringer, der hurtig give sig tilkjende ved Lugten. Hvis Bakterierne kunde føres op i Luften med de opstigende Dampe, vilde Masken i Bryggerigaardene være meget farlig; det er derfor naturligt, at man betragter den med en vis Mistillid. Som foran omtalt gjorde Hr. Brygger Kogsbølle mig allerede i 1878 opmærksom paa Spørgsmaalets Betydning, og jeg anstillede samme Aar et Par smaa Forsøg i den nævnte Retning. I de to følgende Aar bleve de udførte efter en større Maalestok og med de i Indledningen omtalte Vakuums-Kolber; de bleve fortsatte fra 11te Juni 1879 til 1ste Maj 1880. For Sammenligningens Skyld ere de nedenstaaende Beregninger kun foretagne for de Analyser, der udførtes fra 25de Juli 1879 til 1ste Maj 1880 inklusive, nemlig det Tidsrum, i hvilket der samtidig og paa lignende Maade blev foretaget Undersøgelser i Haven. Selv om Tidsrummet 11te Juni—25de Juli 1879 tages med, bliver Hovedresultatet dog det samme. Af de i Maskdampene aabnede Kolber bleve 30,1 % inficerede. Alkoholgjærsvampe af Slægten Saccharomyces fandtes i 12 % af de inficerede og i 3,6 % af de aabnede Kolber. Bakterier iagttoges i 8 % af de inficerede og i 2,4 % af de aabnede Kolber. De parallele Analyser af Luften i Haven vise, at der af de her aabnede Kolber blev 44,4 % inficerede,

I Haven:

Eurotium Aspergillus glaucus, Aspergillus fumigatus, Penicillium glaucum, Penicillium cladosporioides, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullu-

---

de i den efterfølgende Fortegnelse nævnte. Kun følgende kunne vi nemlig med nogen Rimelighed antage at kjende tilnærmelsesvis fuldstændig: Eurotium Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Oidium lactis, Saccharomyces apiculatus og Bacillus subtilis. Endog om saa højt udviklede Arter som Cladosporium herbarum og Dematium pullulans er vor Viden meget mangelfuld, og vi have navnlig ingen klar Erkjendelse af deres Begrændsning overfor nærstaaende Former. I Bakteriernes og Gjærsvampenes Afdelinger ere Folholdene om muligt endnu dunklere. Desuagtet mener jeg, at det er rigtigt at benytte de systematiske Navne. De ere nemlig et ypperligt Hjælpemiddel til hos Læserne at fremkalde en Forestilling om den omhandlede Gjenstand, og uden dem vil det næppe være muligt i nogen Korthed at tale om Tingene.

For ogsaa for min Del at bøde Noget paa de mangelfulde Forarbejder, som i den nævnte Retning staa til vor Raadighed, har jeg i længere Tid særligt rettet mine Studier paa de fundamentale Spørgsmaal om Begrændsningen af Saccharomyces-Arterne. Pasteur meddeler i Études sur la bière, at de ere Udviklingsformer af dematiumagtige Skimmelsvampe: paa nogle Steder udtaler han dette som en afgjort Sag, paa andre derimod med et vist Forbehold. Hans Undersøgelser bevise imidlertid ikke det, de tilsigte. Det er især med Sacch. Pastorianus, at han har experimenteret; i Henhold til sin ovenfor berørte Opfattelse kalder han den »dematinm levûre« og antager blandt Andet, at de i hans Fig. 28, Pl. X, XI og Fig. 33—37 afbildede ovale og meget langstrakte Celler høre til een Art, nemlig den netop nævnte. Gjennem mine Forsøg fandt jeg, at denne sidste Formodning er rigtig, og herfra tog jeg et af mine Udgangspunkter. Mit andet Udgangspunkt blev de saakaldte Askosporedannelser.

Idet jeg betegnede en af Pasteur's Anskuelser om Sacch. Pastorianus som rigtig, maa jeg dog hertil føje den Indskrænkning, at nogle af hans citerede Afbildninger ogsaa kunne forestille andre Arter end den, han sandsynligvis har tænkt paa. Der findes nemlig flere end een Art med de Egenskaber, som tilskrives Sacch. Pastorianus, og flere Arter, hvis »levûre aérobie« i Kultur med Ølurt netop bestaar af langstrakte Celler som de citerede. Det har overhovedet vist sig, at der gives en Gruppe af Gjærformer, som efter at have været underkastede en vis Behandling, hvorved de mere eller mindre udpines, herved faa Tilbøjelighed til at udvikle langstrakte Celler i Stedet for ovale, naar de overføres i gunstig Næringsvædske. Omvendt gives der nogle, som tvertimod under selve Udpiningen danne de ofte omtalte langstrakte Celler, og som efter at være komne i gunstig Næringsvædske, gaa tilbage til den ovale Form. De forskjellige Arter forholde

lans, Oidium lactis, en Art af Slægten Dendrodochium, en do. af Slægten Monilia, en do. af Slægten Arthrobotrys, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, chalaralignende Celler (se Beskrivelsen p. 411), rødfarvede, gjærsvampelignende Celler som de tidligere i Tidsskriftets 2det Hefte beskrevne, Tavle II, Fig. 1—37

sig i de nævnte Retninger forskjellig, og der haves heri værdifulde systematiske Karakterer.

Med Hensyn til Askosporedannelsen har man hidtil overset, at den Tid, der under forresten lige Dyrkningsforhold medgaar til Dannelsen af Askosporerne, yder et vigtigt Skjelnemærke til Bestemmelsen af Formerne. I Forsøg, hvortil Gibsblokke bleve anvendte, og som anstilledes ved almindelig Stuevarme, fandt jeg f. Ex., at Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ fra Bryggerierne Carlsberg og Tuborg i Kjøbenhavn samt fra L'ésperance i Schiltigheim først dannede Askosporer efter 5—7 Døgns Henstand og som Regel meget sparsomt. Overgjær fra et Bryggeri i Burton on Trent forholdt sig paa samme Maade; noget hurtigere indtraadte denne Udvikling hos Overgjær fra et Bryggeri i Edinborg, nemlig efter c. 4 Døgns Henstand, og da tilmed altid i rigelig Grad. Pressegjær fra Borchorst's Fabrik i Kjøbenhavn sluttede sig temmelig nær til den sidstnævnte. I Modsætning til disse Forsøg med Kulturgjær viste det sig, at nogle af de vilde Gjærformer under lignende Omstændigheder udvikler Askosporer allerede i Løbet af 2—3 Døgn. Temperaturen spiller ved disse Dannelser en meget fremtrædende Rolle, dog ikke saaledes, som Reess havde tænkt sig; lav Temperatur begunstiger nemlig ikke, men hæmmer tværtimod denne Udvikling. Nedenstaaende Exempler vise dette. Den omtalte Overgjær fra Edinborg dannede saaledes Askosporer efter 18—21 Timers Kultur ved Temperaturer fra 28—34° C., efter 22 Timers Kultur ved 25° C. og efter 75 Timers Kultur ved 17° C. Ved 37 og ved 7° C. udvikles Askosporerne ikke. En af de Arter, der ere indbefattede under Pasteur's Sacch. Pastorianus, udviklede Askosporer efter 24—25 Timers Forløb ved Temperaturer fra 25—28° C., efter 35 Timer ved 17° C., efter 7 Døgn ved 7° og efter 14 Døgn ved 3° C. Ved 37° C. dannedes disse Formeringsorganer ikke. En anden Art, henhørende til samme Gruppe som den foregaaende, forholdt sig ved 25, 17, 7 og 3° C. hovedsagelig paa samme Maade som denne, men udviklede derimod ikke Askosporer ved 28° C. Disse Kulturer bleve ligesom de tidligere ogsaa udførte ved Hjælp af Gibsblokkene.

Underordnede Karakterer erholdes fra Fermentvirksomheden, Cellens kemiske Forhold, Sporernes Størrelse, Udseende o. s. v.

Ovenstaaende Undersøgelser bleve først gjennemførte i Februar 1882, kort førend Udgivelsen af nærværende Afhandling; de kunde altsaa ikke blive benyttede i dennes 3die Afsnit, Analyserne. I en udførligere Skikkelse ville de efterhaanden blive offentliggjorte i Fortsættelsen af mine »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«.

og Fig. 38—41, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus.

Bacillus subtilis, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme, Bact. Carlsbergense, Mycoderma aceti, smaa Stavbaktier.

I Gl. Carlsberg's Undergjæringskælder:

Penicillium glaucum, ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces cerevisiæ, smaa Stavbaktier.

I Gl. Carlsberg's pneumatiske Maltgjøreri:

Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignede Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Smaa Stavbakterier.

I Gangen udenfor Maltgjøreriet:

Penicillium glaucum, Penicillium cladosporioides, Cladosporium herbarum, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Smaa Stavbakterier.

I Bryggeriet N.'s Undergjæringskjældere:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. glutinis.

Smaa Stavbakterier, Sarcina.

I Maskdampene:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma.

Baciller, smaa Stavbakterier.

De Former, som iagttoges i 1878, fandtes ogsaa alle i 1879 og 1880; de nye, som de to sidstnævnte Aargange have bragt, udgjøre kun et ringe Antal og bestaa tilmed kun af saadanne, der

optraadte meget sjældent. Heraf tør det sluttes, at den foranstaaende Fortegnelse giver en tilnærmelsesvis fuldstændig Oversigt over de Mikroorganismer, der med Luftens Støv i Almindelighed kunne komme i Ølurt, og som her formaa at udvikle sig. Ved at gjennemgaa Fortegnelsen ses det, at alle de paa de 5 sidste Steder iagttagne Former ogsaa ere fundne i Haven, med Undtagelse af Sacch. glutinis og Sarcina. Disse iagttoges nemlig kun i Bryggeriet N.'s Kjælder A. Iblandt Bakterierne savnedes bestandig, ligesom i Miflet's Undersøgelser, Spiriller og Spirochæter. De Former, der blot fandtes i Luften i Haven, vare: Aspergillus fumigatus, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Oidium lactis, de tre Arter, henhørende til Slægterne Monilia, Dendrodochium og Arthrobotrys, de chalaralignende Celler, de rødfarvede, gjærsvampelignende Celler. (Nærværende Tidsskrifts 2det Hefte, Tavle II, Fig. 1—37 og Fig. 38—41) Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme og Bact. Carlsbergense.

Efter saaledes at have stiftet Bekendtskab navnlig med de Resultater, Analyserne fra Vinrankerne og Kirsebærtræerne bragte, skulle vi nu gaa over til at betragte vore Undersøgelser af Maskdampene. I selve Masken findes talrige Bakterier, dels Former som Bacillus subtilis, Mycoderma aceti og smaa Stavbakterier, dels Mikrokokker, ogsaa i Torulaform. Disse Organismer fremkalde sure Gjæringer, der hurtig give sig tilkjende ved Lugten. Hvis Bakterierne kunde føres op i Luften med de opstigende Dampe, vilde Masken i Bryggerigaardene være meget farlig; det er derfor naturligt, at man betragter den med en vis Mistillid. Som foran omtalt gjorde Hr. Brygger Kogsbølle mig allerede i 1878 opmærksom paa Spørgsmaalets Betydning, og jeg anstillede samme Aar et Par smaa Forsøg i den nævnte Retning. I de to følgende Aar bleve de udførte efter en større Maalestok og med de i Indledningen omtalte Vakuums-Kolber; de bleve fortsatte fra 11te Juni 1879 til 1ste Maj 1880. For Sammenligningens Skyld ere de nedenstaaende Beregninger kun foretagne for de Analyser, der udførtes fra 25de Juli 1879 til 1ste Maj 1880 inklusive, nemlig det Tidsrum, i hvilket der samtidig og paa lignende Maade blev foretaget Undersøgelser i Haven. Selv om Tidsrummet 11te Juni—25de Juli 1879 tages med, bliver Hovedresultatet dog det samme. Af de i Maskdampene aabnede Kolber bleve 30,1 % inficerede. Alkoholgjærsvampe af Slægten Saccharomyces fandtes i 12 % af de inficerede og i 3,6 % af de aabnede Kolber. Bakterier iagttoges i 8 % af de inficerede og i 2,4 % af de aabnede Kolber. De parallele Analyser af Luften i Haven vise, at der af de her aabnede Kolber blev 44,4 % inficerede,

og at der ikke fandt nogen Infektion Sted med Alkoholgjærsvampe; Bakterier optraadte i 8,6 % af de inficerede og i 3,7 % af de aabnede Kolber. Heraf læres, at Maskdampene inficerede færre Kolber end Luften i Haven, og at Bakterierne i hvert Tilfælde ikke vare tilstede i større Mængde i de nævnte Dampe end i den frie Luft. Det maa endvidere erindres, at nogen Infektion endog kan tænkes at hidrøre fra Klæderne hos de Arbejdere, der skovlede Masken fra den ene Vogn og over i den anden. I Overensstemmelse med, hvad der i Almindelighed er Tilfældet, var Skimmelinfektionen den rigeligste. Den ringe tilstedeværende Infektion af Alkoholgjærsvampe, maa jeg nærmest antage, skyldes Støv fra Bryggeriets Gaard, hvor Gjæren, naar den fyldes i smaa Foustager til Bortsendelse, undertiden faar Lejlighed til at indtørre. De iagttagne Organismer vare, som foran nævnt, de samme, der optraadte i Luften i Haven. Tager man alt i Betragtning, kommer man til den rimelige Slutning, at næppe en eneste af de i Kolberne opfangede Organismer, skyldes Masken selv; dennes store Bakterierigdom har i hvert Fald slet ikke givet sig tilkjende, og det er Spørgsmaalets Hovedpunkt. Disse Undersøgelser gaar saaledes imod de Lærdomme, der ere førte frem af Soyka og Pettenkofer (se Indledningen p. 385) og støtte Nägeli's og Miquel's Opfattelse (Indledningen p. 385 og 390).

Det er imidlertid indlysende, at Masken maa være meget farlig, naar den udtørres saaledes, at den med Vinden kan sende Støvskyer op i Luften, men heldigvis forbliver den i Almindelighed ikke saa længe i Bryggerigaardene. Til Forsøg lod jeg i August 1881 en Bunke deraf ligge et Døgn, i hvilken Tid det var tørt Sommervejr, om Dagen med Solskin og svag Blæst. Bunken blev lagt ud om Eftermiddagen, og den følgende Dag paa samme Tid foretoges Undersøgelserne. Kun det alleryderste Lag var da tørret ind, og det saa ikke ud til, at der i nogen kjendelig Grad kunde udgaa Støv derfra. En halv Snes Vakuums-Kolber bleve aabnede saaledes, at de, hvis Maskens Overflade virkelig formaaede at støve, da nødvendigvis maatte suge sig fulde deraf. Resultatet blev imidlertid, at der ikke optraadte Bakterier eller Saccharomyces-Arter i en eneste Kolbe; Skimmel derimod fandtes i flere og af samme Art som af Luften omkring Masken, nemlig Cladosporium herbarum. At denne ikke forhindrer muligt indsugede Bakterier i at udvikle sig læres af de andre Forsøg. Heraf følger altsaa, at Masken for at blive farlig for Bryggerigaardene maa ligge meget længere, end den plejer, og i tynde Lag udtørre til Støv. Hvis dette ikke sker, giver den ingen Anledning til Bekymring.

Det næste af de undersøgte Punkter, der især opfordrer til Sammenligning med Analyserne fra Haven, er Gangen. Denne faar meget Støv fra det i et hosliggende Rum styrtede Byg, og dette har da ogsaa tydeligt vist sig i Analyserne. Luften var her nemlig ikke blot meget rigere paa Organismer end i Haven, men den frembragte overhovedet den største Infektion, som nogetsteds indtraadte; især udmærkede den sig ved sin Rigdom paa Bakterier. Ogsaa Penicillium glaucum var her tilstede i rigeligere Mængde end i Luften i Haven.

Sammenholdes hermed Analyserne fra Maltgjøreriet, saa se vi, at alle de i Gangen iagttagne Former, med Undtagelse af Penicillium cladosporioides, ogsaa optraadte her, men i lidt ringere Mængde, hvilken Indskrænkning vistnok maa tilskrives Regnbadet og Kokesfiltret, skjøndt de aldeles ikke gjorde den tilsigtede Tjeneste. (Senere er Filtret blevet afløst af et andet). Det mest Karakteristiske for Maltgjøreriet er den store Skimmelvegetation, og denne skyldes tilmed især en Form, der alle de andre Steder var meget sjælden, nemlig Aspergillus glaucus. Den optraadte med udviklet Fruktifikation i 25 % af de aabnede Kolber, og det er desuden muligt, at en Del af det ubestemmelige Mycelium, som bestandig fandtes i nogle, ogsaa hører herhen. Aspergillus glaucus maa i Følge Ovenstaaende betragtes som hidrørende fra Maltgjøreriet selv, og man kunde nærmest være tilbøjelig til at antage, at dens talrige Konidier eller Sporer i Luften maatte stamme fra de hist og her forekommende skimlede Bygkorn. Det er ogsaa muligt, at disse have været Aarsagen, men jeg maa dog hertil føje, at jeg, da jeg senere til forskjellig Tid undersøgte Skimmelvegetationen sammesteds, yderst sjælden fandt den omtalte Art, men derimod bestandig navnlig en meget yppig Væxt af Penicillium glaucum. Som man maatte vente, var Luften i Maltgjøreriet ikke saa rig som Luften i Haven paa saadanne Skimmelformer som Cladosporium herbarum og Dematium pullulans, der væsentlig ere knyttede til Løvet og andre Plantedele i det Frie. Saccharomyces-Arter iagttoges hverken i Gangen eller Maltgjøreriet.

Det er den rige Optræden af disse Svampe, hvorved Luften i N.'s Gjæringskjældere udmærker sig i Modsætning til alle de andre undersøgte Steder. Sammenlignet med Luften i Haven var endvidere Penicillium glaucum og Bakterierne her lidt mere fremtrædende. Iblandt de tre Kjældere, A, E og I, udmærkede I sig ved sin noget større Rigdom paa Bakterier og Saccharomyces-Arter end de andre to; E derved, at den manglende Sacch. Pastorianus; A indeholdt,

som foran berørt, to Arter, der ikke fandtes i de andre, nemlig Sacch. glutinis og Sarcina, men ingen af disse var almindelig. I var altsaa rigest paa Bakterier, derefter kom A og endelig E.

I Sammenligning med de foregaaende udmærkede Luften i Gl. Carlsberg's Gjæringskjælder sig ved sin Fattigdom paa Organismer; det var overhovedet det Sted iblandt alle de undersøgte, hvor Luften var renest.

Nedenstaaende Tabel angiver det Procentantal af de aabnede Kolber, der paa hvert Sted bleve inficerede:

I.	Gl. Carlsberg's Undergjæringskjælder	22 %
II.	Maskdampene	31 -
III.	Vinrankerne	50 -
IV.	Kirsebærtræerne	57 -
V.	Bryggeriet N's Kjælder E	70 -
VI.	— — — A	83 -
VII.	— — — I	100 -
VIII.	Maltgjøreriet	100 -
IX.	Gangen	100 -

Ved disse Beregninger ere alle de i 1879 og 1880 udførte Analyser lagte til Grund. Forholdene have imidlertid, som bemærket, ikke tilladt, at der uafbrudt blev foretaget samtidig Undersøgelser paa alle de anførte Punkter. De to sidste Forsøgsrækker, nemlig den 50de og 51de, egne sig bedst til Sammenligning, da de indeholde ensartede og paa samme Tid udførte Analyser fra alle de iagttagne Punkter, dog ikke fra Maskens Dampe; de vise os følgende Skala:

I.	Kirsebærtræerne	10 %
II.	G. Carlsberg's Undergjæringskjælder	15 -
III.	Vinrankerne	40 -
IV.	Bryggeriet N's Kjælder A	55 -
V.	— — — E	75 -
VI.	— — — I	100 -
VII.	Maltgjøreriet	100 -
VIII.	Gangen	100 -

Forenes Tallene for Vinrankerne og Kirsebærtræerne til et fælles Udtryk for Luften i Haven, saa kommer atter Gl. Carlsberg's Undergjæringskjælder i første Række, og det viser sig, at de to Tabeller i Hovedtrækkene stemmer overens.

Det maa endvidere bemærkes, at denne Kjælder var det eneste af alle de undersøgte Steder, hvor der kun optraadte een Art i hver af de inficerede Kolber. Analyserne fra de andre undersøgte Steder lære os, at der her i nogle faa Tilfælde fandtes to og meget

sjældent tre til fire Arter i hver af de inficerede Kolber. I den Retning viser det sig atter, at Haven slutter sig nærmest til Gl. Carlsberg's Gjæringskjælder, derefter kommer Maltgjøreriet, Maskdampene og N's Kjældere og endelig tilsidst Gangen.

Naar der i en Kolbe optræder flere Organismer, da er dette et Bevis for, at der i det indsugede Rumfang Luft har været mindst lige saa mange Kim tilstede, som der udviklede sig særskilte Arter. Bliver omvendt en Kolbe inficeret med kun en eneste Art, da kan dette, som foran berørt, betyde, at der i det indsugede Rumfang Luft kun var en eneste Kim tilstede, men der foreligger dog ogsaa den Mulighed, at flere Kim, hørende til den samme Art, kunne være blevne opfangede. Meget sjældent vil det være muligt bestemt at afgjøre, hvorledes Forholdet virkelig er. Under visse Omstændigheder kan det dog ske, i det Mindste med en høj Grad af Sandsynlighed. Lad os forudsætte, at en Kolbe har indsuget en eneste Art, f. Ex. Sacch. cerevisiæ. Vi iagttage den med Omhyggelighed fra Dag til Dag og spejde navnlig efter det Øjeblik, da det er muligt makroskopisk at iagttage Gjærens Formering. Viser denne sig som en eneste lille Plet, og der ikke optræder flere i Vædsken, førend Gjæringen ret har taget fat og gjort den Art Undersøgelse umulig, saa er der al Grund til at antage, at denne Gjærplet stammer fra en eneste Celle eller een Koloni af indbyrdes forbundne Celler, der jo da ogsaa repræsenterer een Kim. Finde vi derimod flere af disse smaa Vegetationscentra i Kolben, da vide vi ikke, om de hidrøre fra en eller fra flere oprindelig fangede Kim. Det vil sige, der er liden eller ingen Sandsynlighed for, at flere adskilte Kim skulde forene sig og danne kun et eneste Vegetationscentrum, medens det meget godt kan tænkes, at een oprindelig tilstedeværende Celle ved sin Formering først kan danne en saa ringe Koloni, at den makroskopisk ikke er til at opdage, og at dennes Elementer dernæst ved Bevægelse i Vædsken kunne blive adskilte, saa at de herved komme til at grundlægge nye Vegetationscentra. I disse Betragtninger har jeg naturligvis bestandig havt levende, formeringsdygtige Kim for Øje; og idet jeg benyttede Sacch. cerevisiæ som Exempel, hidrører dette derfra, at jeg ved visse Forsøg med denne Art netop havde Nytte af de omtalte Iagttagelser. De gjælde imidlertid ogsaa for andre Arter. Betragte vi altsaa vore inficerede Kolber, hvoraf de fleste indeholde en, og nogle faa flere Arter, og spørge vi, hvilke Oplysninger vi heraf kunne erholde om Mængdeforholdene af de Kim, der fandtes i vedkommende Luft, da Indsugningen foregik, saa se vi i Følge det Foregaaende, at vi i det Højeste have en vis rime-

lig Grund til at antage, at Kimenes Mængde har været størst i det Rumfang Luft, som inficerede vedkommende Kolbe med det største Antal Arter. Denne Antagelse faar imidlertid en væsentlig Støtte gjennem den Erfaring, vi have gjort, at det Sted, nemlig Gangen, der ogsaa for det uvæbnede Øje var rigest paa Støv, ikke blot bestandig inficerede 100 % af de aabnede Kolber, men tillige leverede det højeste Procentantal af saadanne Kolber, der hver indeholdt to eller flere Arter. Der kræves overhovedet en vis Skjønsomhed til at drage de rette Slutninger, thi vi ere endnu langt fra naaede saa vidt paa dette Omraade, at vi kunne omforme Opgaverne til simple Regnestykker med nøje kjendte Faktorer.

Det erindres, at de iagttagne Mikroorganismer bleve sammenfattede i tre Grupper, nemlig Skimmelsvampene, Saccharomyces-Arterne og Bakterierne. Heraf har den første Gruppe især været fremtrædende i Maltgjøreriet, i N's Kjældere I og A og i Gangen. Saccharomyces-Arterne vare tilstede i størst Mængde i N's Gjæringskjældere. Bakterieinfektion optraadte i det højeste Procentantal Kolber i Gangen, derefter kom Prøverne fra N's Kjældere og Maltgjøreriet, og tilsidst Prøverne fra Haven, Maskdampene og fra Gl. Carlsberg's Gjæringskjælder.

Aarsagen til den paafaldende Grad af Renhed, hvorved Luften i denne Kjælder udmærker sig, maa for en Del tilskrives den strænge Orden, som der hersker, men dog i en endnu højere Grad den Omstændighed, at Kjælderen ved Hjælp af Ismaskiner forsynes med kold Luft, som ovenikjøbet underkastes en særegen Rensning i det med Klornatrium mættede Regnbad. At en saadan Forbedring maa have stor Betydning for et Bryggeris rationelle sikkre Drift er af sig selv indlysende. Gl. Carlsberg's Gjæringskjælder indtager ogsaa i Sammenligning med de andre undersøgte en Stilling aldeles udenfor Reglen. Analyserne fra N's Kjældere, antager jeg, give i det Hele en Forestilling om, hvilken Verden af Mikroorganismer Undergjæringskjældere i Almindelighed huse i Luften. De faa Undersøgelser, der bleve anstillede i et tredie Bryggeri M's Undergjæringskjældere stemmede i det Mindste hermed, dog med den Undtagelse, at vilde Gjærformer her ikke iagttoges. Saavidt jeg ved, er Carlsberg det første Bryggeri, i hvilket der er foretaget saadanne Undersøgelser. Det vilde imidlertid have Interesse for Gjæringstekniken, om der ogsaa fra andre Bryggerier, end de i denne Meddelelse omhandlede, fandtes lignende Analyser, saa at en Sammenligning kunde finde Sted.

Iblandt de forannævnte Organismer er der følgende, om hvilke jeg her vil have Anledning til at meddele nogle Oplysninger.

Det blev fremhævet i Anmærkningen p. 400, at Dematium pullulans ogsaa hører til de kun ufuldstændig kjendte Arter; navnlig mangle vi bestemte Karakterer, hvorved vi kunne skjælne dens forskjellige Udviklingsformer fra lignende, men tilhørende andre Arter. Gjennem mine Iagttagelser er jeg kommen til den Anskuelse, at der under det nævnte systematiske Navn skjules flere end een Art. Indtil fuldstændigere Undersøgelser erholdes, bliver det imidlertid rigtigst ikke at indføre nye Betegnelser. De gjærsvampelignende Celler, som jeg i Novbr. 1880 opfangede fra Luften i Maltgjøreriet og i Kjælderen I, lignede de tilsvarende Dannelser hos den typiske Dematium pullulans, og udviklede et farveløst Mycelium som det, der findes hos denne; men under Forhold, hvor det brungrønne Mycelium traadte frem hos denne, fandtes det derimod ikke hos hine; dog bleve de i nogen Tid dyrkede dels i Urt og dels i Saccharose. Efter at det ved Gayon's og mine Undersøgelser er blevet godtgjort, at den inverterende Evne kan mangle hos Svampe, der fremkalde Alkoholgjæring, maa der i fysiologiske Studier over Former, der leve og udvikle sig i Urt, ikke blot som hidtil stilles Spørgsmaal angaaende den sidstnævnte, men ogsaa angaaende den førstnævnte Fermentvirksomhed. De efterfølgende Undersøgelser vise, at der i Naturen findes ret talrige Kombinationer i den nævnte Retning, og at den inverterende Evne, skjøndt meget almindelig, dog ikke i den Grad er udbredt, som vi tidligere antoge. Ved mine Forsøg fandt jeg, at typiske Former af Dematium pullulans invertere Saccharose, og at dette ogsaa gjælder om de dematiumagtige Svampe fra Maltgjøreriet og Kjælderen I. Disse to vare i fysiologisk Henseende dog indbyrdes noget forskjellige, thi medens Formen fra I dannede henved $^3/_8$ Vol. $^0/_0$ Alkohol, naar den blev dyrket i Urt, var det for den andens Vedkommende under lignende Omstændigheder ikke muligt med Sikkerhed at paavise nogen Alkoholdannelse. Udvikling af Skum fandt i intet Tilfælde Sted. De ubestemmelige gjærsvampelignende Celler, der saa ofte nævnes i Analyserne, høre rimeligvis i Almindelighed til en af de her nævnte Svampe.

Med Hensyn til Udbredelsen af Oidium lactis har jeg i de senere Aar foretaget Undersøgelser, hvis Hovedresultat jeg her finder en passende Lejlighed til at meddele. Det angives om den, at den almindelig voxer paa Exkrementer; i mine tidligere Studier[1])

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Oidium lactis. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 1879, p. 243).

har jeg paavist, at dette ikke er aldeles rigtigt. Dens Konidier findes vel hyppig, dog ikke altid i saavel friske som gamle Exkrementer af Ko, Hest og Menneske, og navnlig i den førstnævnte Gjødning, men kraftige Vegetationer som de, der optræde paa Urt og Mælk, giver den ikke her, ej heller naar spiredygtige Konidier anbringes derpaa, og den saaledes indledede Kultur bliver begunstiget af Fugtighed og Varme. Undertiden viste det sig, at vedkommende Gjødning vel kunde indeholde livskraftige Konidier, men at de i det nævnte Substrat ikke formaaede at udvikle sig, selv om de der bleve underkastede heldige Dyrkningsvilkaar; først naar der blev tilsat en eller anden god Næringsvædske, spirede de og frembragte da kraftige Vegetationer. Dette var især Tilfældet med gammel Gjødning fra Marken, hvor Regnen havde foretaget en delvis Udvaskning af Næringsstofferne; frisk Gjødning forholdt sig dog ogsaa undertiden, omend sjældnere, paa samme Maade. Det vil altsaa kort sagt sige: Konidier af Oidium lactis findes ikke sjældent i Exkrementer og vel navnlig i Koens, men danne paa disse Næringssubstrater enten slet ingen Vegetation eller en forholdsvis svag, sammenlignet med hvad der finder Sted paa Mælk, Urt og visse Planteinfusioner. Exkrementer kunne altsaa ikke betragtes som særlig heldig Næringsbund for denne Art. Hele Aaret igjennem har jeg ret jævnlig fundet den i levende Tilstand i Jorden, saavel under Frugttræer som under andre Planter i Haven, i Skoven og paa Marken. Og at den hører til de Former, der kunne overvintre i Jorden, har jeg overbevist mig om ved direkte Forsøg. Bestandig fandtes den kun som den almindelige Konidieform. De efterfølgende Analyser vise, at den ikke er almindelig i Luftens Støv; dette havde jeg ogsaa fundet ved at udstille steriliseret Mælk for Luftens direkte Paavirkning. Den hertil benyttede Mælk blev hældt i Skaale, saa at den frembød en stor Overflade, og henstod 48 Timer, hvorpaa den blev overbunden med Filtrerpapir og ved Værelsets Temperatur underkastet en længere Prøvetid. Disse Forsøg bleve anstillede paa et Par forskjellige Steder i Haven i September og Oktober 1880, i Januar, Februar, Marts og Oktober 1881. Af alle de benyttede Mælkeprøver blev der før Steriliseringen taget mindre Portioner, og paa disses Overflade fremkom der uden Undtagelse en kraftig Væxt af vor Svamp. Da jeg hermed inficerede en Del af den udstillede steriliserede Mælk, efter at den var taget ind, blev ogsaa den bedækket med de bekjendte lodne Skimmellag af typiske Oidium lactis, et Bevis for, at den omtalte Mælk virkelig kunde have fostret en saadan Vegetation, hvis Konidierne havde været tilstede i Luftens Støv. Da

dette nu imidlertid ikke skete, maa heraf sluttes, at Oidium lactis ikke fandtes i den Luft, der kom i Berøring med den udstillede Mælk. Til forskjellig Tid har jeg ligeledes foretaget talrige Forsøg med modne Frugter (Kirsebær, Jordbær, Hindbær, Stikkelsbær og Blommer fra Carlsberg's Have, samt Vindruer fra Vogeserne), men fandt den yderst sjælden paa disse, og da kun nogle faa Konidier. Jeg maa her omtale den Iagttagelse, at nogle Prøver nymalket, sød Mælk imod det Sædvanlige ikke indeholdt Spor af Oidium lactis. Denne Mælk stammede fra Køer, som i Juni 1881 stode paa Marken. Muligvis faar Mælken i Almindelighed sin Infektion fra Stalden, men paa hvilken Maade da? Tidligere havde jeg ment, at al Mælk indeholdt Konidier. Ifølge Brefeld's og mine Undersøgelser maa det antages, at den kun optræder som Konidieform, og at dens Udviklingscyklus hermed er afsluttet; da den nu tilmed har et ret karakteristisk Udseende, kan det næppe anses for at være en umulig Opgave at forfølge dens Kredsløb i Naturen. Den har i lang Tid tildraget sig Forskernes Opmærksomhed, og i den medicinske Literatur beskyldes den for at være Sygdomsvækker; alene set fra dette Synspunkt opfordrer den til særligt Studium, men ogsaa for Gjæringsfysiologien har den megen Interesse. I den nærmeste Fremtid ville andre Arbejder lægge saaledes Beslag paa mig, at jeg ikke længere kan beskjæftige mig med den. Det vil derfor glæde mig, om mine Bidrag kunde tjene Andre, der maatte have Lejlighed til i en eller anden Retning at forfølge Spørgsmaalene videre.

Chalara Mycoderma hører ligesom den foregaaende til de vistnok talrige Arter, der hele Aaret igjennem findes i Jorden; den fandtes ogsaa ret almindelig i Exkrementer. I Luftanalyserne iagttog jeg den aldrig; dette gjælder i hvert Fald om den typiske Form[1]). Foruden denne findes imidlertid andre med et til en vis Grad lignende Udseende, men rimeligvis tilhørende forskjellige Arter. I en af Vakuums-Kolberne, som i Novbr. 1880 bleve aabnede under Vinrankerne, optraadte et gulgraat, dejgagtigt Bundfald, bestaaende af gjærsvampelignende Celler, ovale, kuglerunde og pølsedannede, hvis Udseende, navnlig naar man betragtede de tilstedeværende Kolonier, hvori de enkelte Led endnu vare indbyrdes forbundne, mindede noget om Fig. 37—39 i Cienkowski's Afbild-

---

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Petersborg Akademiets Bullet. T. XVII, 1873 p. 566—89. Tab. II, Fig. 37—60).
Emil Chr. Hansen, Chalara Mycoderma. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B, 1879, p. 226. Tavle I, Fig. 20—28).

ninger af Chalara Mycoderma. De vare imidlertid udfyldte med ensartet Protoplasma uden fremtrædende Vakuoler, og ved fortsatte Kulturer udviklede de ikke de langstrakte Celler og mycelielignende Forgreninger, der findes hos den nævnte Art; de kunne derfor ikke henføres til denne. I Urt formerede de sig ved Knopskydning og frembragde indtil $^1/_2$ Vol. % Alkohol, men uden Skumdannelse. Saccharoseopløsninger bleve inverterede af dem efter kort Tids Forløb, og Vædsken gav derpaa tydelig Jodoform- og Pasteur's Draabereaktion; Luftudvikling iagttoges dog lige saa lidt i dette som i det foregaaende Tilfælde.

De rødfarvede, gjærsvampelignende Celler, der ere omtalte i den første Meddelelse og beskrevne i en særlig Afhandling[1]), ere ligeledes alle iagttagne i de her offentliggjorte Analyser. Disse i Forening med andre Undersøgelser, jeg har anstillet, vise hen til, at den Form, der er afbildet i Fig. 1—37, optræder til alle Aarets Tider i Luftens Støv; Formen Fig. 38—41 iagttog jeg kun i Maanederne Maj, Juni og Oktober, og endelig den tredie, der er afbildet i Fig. 42—44, i Juli, Septbr. og Oktbr. De fandtes ligesom tidligere saavel i det Frie som inde i Værelser og Loftsrum. De tre nævnte Former danne alle, som det er meddelt i den foran berørte Afhandling, Vegetationer paa stivelseholdige Næringssubstrater (Kartoffelskiver, Klister o. s. v.). Dette er derimod ikke Tilfældet med en fjerde Form, som jeg senere har havt Lejlighed til at iagttage. I Habitus stemmer den nærmest overens med Fig. 38—41. Saavel i Urt som i Saccharoseopløsninger udviklede den sig kun svagt og dannede ingensinde Hinder, men et mere eller mindre stærkt rødfarvet Bundfald, hvilket navnlig i de sidstnævnte Vædsker viste sig med en smuk rosenrød Farve. Den udviklede ikke Invertin og fremkaldte ejheller Alkoholgjæring.

Pasteur har i sit oftere nævnte Værk paa Tavle III afbildet to Arter af smaa runde, gjærsvampelignende Celler, som han kalder Torula, og om hvilke han er tilbøjelig til at antage, at de ere Udviklingsformer af Sacch. Mycoderma. Om deres fysiologiske Egenskaber beretter han kun, at de danne saa ringe Mængder Alkohol i en gjæringsdygtig Næringsvædske, at man egentlig ikke kan henregne dem til Alkoholgjærformerne. De ere af og til blevne iagttagne i mine Luftanalyser saavel inde i Lokalerne som ude i Haven. Medens Analyserne vare i Gang, havde jeg ikke

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Rødfarvede Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 1879, p. 253. Tavle II, Fig. 1—44.)

Tid til at underkaste disse Svampe et nøjere Studium, og de bleve derfor alle betegnede med Fællesnavnet, Pasteur's Torula Pl. III. Gjennem senere Experimenter har jeg erfaret, at der derunder indbefattes mindst tre særskilte Arter, hvoraf den ene i Udseende stemmer med den mindste Form, som Pasteur afbilder paa den citerede Tavle, og de to andre med den større; disse sidste ville vi foreløbig benævne Pasteur's Torula 2 og 3 og den første Pasteur's Torula 1. I de paa forskjellig Maade foretagne Dyrkningsforsøg bevarede de hver sin Ejendommelighed. De formerede sig kun ved Knopskydning, udviklede hverken Mycelium eller Askosporer, og de viste ejheller nogen Tilbøjelighed til at danne Hinder som Sacch. Mycoderma. Endvidere har jeg fundet, at de i Modsætning til de fleste andre beslægtede Former udmærke sig derved, at de ikke afsondre Invertin. Det er vistnok nærmest 1 og 2, Pasteur har havt for Øje, thi disse frembringe i Urt og Sukkeropløsninger ingen eller næppe kjendelige Alkoholmængder uden Skumdannelse. Arten 3 gav derimod efter længere Henstand i Urt c. $^{7}/_{8}$ Vol. $^{0}/_{0}$ Alkohol, med en ringe, men tydelig Skumdannelse; Analyserne paaviste ogsaa i dette Tilfælde med Sikkerhed, at der havde fundet en Udvikling af Kulsyre Sted. Jeg kan endvidere tilføje, at jeg paa modne Druer, som jeg plukkede under Vinhøsten i Vogeserne, ikke sjælden fandt kuglerunde, gjærsvampelignende Celler, der ligesom Torula 2 og 3 nærmest ligne den større Form paa Pasteur's Pl. III; men i fysiologisk Henseende adskilte de sig væsentlig fra alle de tre foregaaende, idet de nemlig inverterede Saccharose, og i Urt og Sukkeropløsninger frembragte en ret kraftig Alkoholgjæring (lidt over 1 Vol. $^{0}/_{0}$) med stærk Skumdannelse. Foruden i Formen lignede de de foregaaende deri, at de hverken dannede Askosporer, Mycelium eller Hinder. Vi staa altsaa ved denne Gruppe atter over for Arter, som vi, uagtet de vise os tydelige fysiologiske Differencer, dog i Øjeblikket ikke ved morfologiske Undersøgelser formaa at adskille.

Som det ses af Analyserne, spillede Sacch. Pastorianus en fremtrædende Rolle i Kjælderne A og I. Med dette systematiske Navn betegner jeg en Alkoholgjærsvamp, der ligner Pasteur's Afbildninger baade af den nævnte Art og af hans saakaldte »levùre caséeuse«. Naar dens fysiologiske Ejendommeligheder tages med i Betragtning, synes det imidlertid, at det maa være en af de Former, som Pasteur i sine Studier over Øllet og dets Sygdomme har betegnet med det førstnævnte Navn. Nogen Sikkerhed kan man naturligvis ikke faa, dertil hersker der endnu paa hele dette Om-

raade altfor stor Uklarhed. Det er saaledes ogsaa tvivlsomt, om Reess, Engel og Pasteur ved det systematiske Navn, Sacch. Pastorianus, virkelig betegne den samme Art. Vor Alkoholgjærsvamp, som vi altsaa kalde Sacch. Pastorianus, optraadte i Luftens Støv i Haven i Juli, Aug. og Septbr., men udenfor disse Tider af Aaret kun rent undtagelsesvis. I Analyserne fra Kjælderne A og I iagttoges den i Juni, Juli, Septbr., Oktbr. og Novbr., og det er rimeligt, at jeg, hvis jeg her havde kunnet foretage Undersøgelserne hele Aaret igjennem ligesom i Haven, da ogsaa vilde have fundet den til alle Aarets Tider, om end i ringere Antal i de koldeste Maaneder. Til de Experimenter, som her paa Laboratoriet i Løbet af de sidste Par Aar ere blevne anstillede med denne Art, hørte ogsaa Brygningsforsøg i det Store, udførte i Pasteur's Gjæringskar med almindelig Ølurt som Næringsvædske. Disse Brygninger bleve foretagne nogle Gange; hver gav c. 150 Liter Øl. Dette blev fyldt paa Foustager og ligesom det Øl, der gaar i Handelen, lagret i Lagerkjælderen i 3 Maaneder. Til Sammenligning foretoges lignende Brygninger med Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ fra Bryggeriet. Det viste sig da bestandig, at Øllet af Sacch. Pastorianus havde en ejendommelig Lugt og en bitter, for Ølkjendere ubehagelig Bismag, hvorved det tydelig adskilte sig ikke blot fra det Øl, der blev brygget til Sammenligning i Pasteur's Gjæringskar med Sacch. cerevisiæ, men ogsaa fra Bryggeriets Lagerøl. Naar det i Flasker blev hensat i Værelset, var det tilbøjeligt til at danne et betydeligt Gjærbundfald, som ved Rystning gjorde den ellers klare Vædske grumset, uklar. Jeg har Grund til at antage, at denne store Ulempe, som jo i de senere Aar har været temmelig almindelig saavel i Bryggerier her i Danmark som navnlig i Tydskland, i det Mindste i mange Tilfælde skyldes denne Gjærsvamp. Den hører i hvert Fald til de mistænkelige Gjæster i et Bryggeri, og faar den Lejlighed til at formere sig i Gjæringskarrene, saa at den efterhaanden kommer til at udgjøre en større Del af den benyttede Gjær, vil den ogsaa give Øllet en Afsmag. Dette maa navnlig træde frem i saadanne Etablissementer, hvor man ikke beger Foustagerne saaledes, at Øllets Smag væsentlig bestemmes deraf. Det Farlige ved den forøges yderligere derved, at den med Lethed danner Askosporer, og at den har en meget kraftig Gjæringsevne; den frembragte nemlig Øl med samme Alkoholmængde som Bryggerigjæren. Nogle Gange har jeg havt Lejlighed til at iagttage, hvorledes den efterhaanden bredte sig i et Bryggeris Gjær; tilsidst udgjordes endog henved Halvdelen af Cellerne af denne Art. Den »Degenereren« af Gjæren, hvorover der i visse Bryggerier klages,

finder ofte heri sin Forklaring. Det turde overhovedet være Tilfældet, at de vilde Gjærformer af og til fremkalde ligesaa store Forstyrrelser i Gjæringsindustrien som Bakterierne; man har endnu kun ikke faaet Opmærksomheden ret henvendt derpaa. Pasteur, som er Hovedkilden, meddeler intet Bestemt derom. Med Hensyn til Bakterierne har han derimod den store Fortjeneste at have gjort Praktikerne det tydeligt indlysende, hvilken Skade disse smaa Væsener kunne anrette, og Erfaringen har godkjendt Rigtigheden af hans Advarsler. Det er ogsaa fornemlig Pasteur, der har indført Mikroskopet i Bryggerierne, og at dette i en kyndig Forskers Haand ofte har gjort god Nytte, er hævet over al Tvivl. Med temmelig Lethed kan man f. Ex. ved Hjælp heraf afgjøre, om der er Bakterier i Gjæren eller ej, og derpaa ved Udvalg af denne sikkre sig mod mange Plager. Overfor de vilde Gjærformer bliver Sagen imidlertid meget vanskeligere, og den mikroskopiske Undersøgelse for sig alene formaar kun i ringe Grad eller slet ikke at hjælpe os; her er endnu Alt dunkelt. Mine Undersøgelser over Sacch. Pastorianus og Pasteur's problematiske »levûre caséeuse« ere ikke aldeles afsluttede; de ville senere blive meddelte i en anden Afhandling.

Den røde Bacil, som i Novbr. 1878 blev opfangen fra Luften i det Frie, optraadte ligeledes i en af de Kolber, der i Decbr. det følgende Aar bleve aabnede under Vinrankerne, og i Juli 1880 i en Flaske fra Kirsebærtræerne. Den hører til de meget sjældne Former i Luftens Støv. Cohn og Frank have betegnet den eller i det Mindste en lignende Form med Navnet Bacillus ruber. Arten er meget ufuldstændig kjendt.

Det er den sædvanlige Vanskelighed, der møder os overalt, hvor Talen er om Luftens Mikroorganismer; bestandig træder vor ufuldstændige Kundskab om Arterne og deres Begrændsning os hindrende imøde. Forskningen maa derfor lade mange Spørgsmaal henstaa mere eller mindre uopklarede. Kun visse Hovedtræk formaa vi at fastslaa; disse lønne dog Arbejdet, idet de i mere end en Retning give os Oplysninger, der have Værdi saavel for Theori som for Praxis. Betydeligere Fremskridt vil der imidlertid først kunne opnaas, naar Arterne ere blevne fuldstændigere gjennemforskede, navnlig i morfologisk, udviklingshistorisk Retning. Det er de samme Forarbejder, hvortil ogsaa Gjæringsfysiologien og Læren om Smitsygdommene trænge, for at der kan vindes sikre Udgangspunkter,

Analyser.

10de—12te Juni 1879. 16de Forsøgsrække.

6 Bægerglas og 4 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vinrankernes Løv var ifærd med at udfoldes; Kirsebærtræerne havde netop afblomstret. Vejrlig og Temperatur i Haven: 10 Juni. S. O. Solskin, Min. 11°, Max. 23° C. — 11 Juni. S. O. Solskin, Min. 12°, Max. 28° C. — 12 Juni. N. V. Solskin, Min. 11°, Max. 26° C.

Bægerglassene fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok tilhørende Dematium pullulans.
II. Klar, brun. Mucor stolonifer, gjærsvampelignende Celler, vistnok tilhørende Dematium pullulans.
III. Som det foregaaende.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Som det foregaaende Bægerglas.
II. Klar, brun. Penicillium glaucum, Dematium pullulans.

Bægerglassene fra Kirsebærtræerne:

I. Brun, temmelig klar. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus.
II. Brun, temmelig klar. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Mycelium med »Gemmen«, Botrytis cinerea, Saccharomyces ellipsoideus.
III. Klar, brun. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, gjærsvampelignende Celler, vistnok tilhørende Dematium pullulans.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum, ubestemmeligt, vandgraat Mycelium, gjærsvampelignende Celler, vistnok tilhørende Dematium pullulans.
II. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.

11te Juni. 17de Forsøgsrække.

6 Vakuums-Kolber bleve aabnede i Maskdampene. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. O. Solskin, Min. 12°, Max. 28° C.

I. Temmelig klar, brunladen. Smaa gjærsvampelignende Celler.
II. Som den foregaaende, men tillige med Hindepartikler, dannede af Saccharomyces Mycoderma.
III. Uklar, affarvet, gulladen. Smaa Stavbakterier.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

3die—5te Juli. 18de Forsøgsrække.

8 Bægerglas og 8 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vinrankernes Løv var fuldt udviklet; Kirsebærtræerne havde umodne Frugter. Vejrlig og Temperatur i Haven: 3 Juli. S.V. Solskin, Min. 10°, Max. 23° C. — 4 Juli. S. V. Regn og stærk Blæst, Min. 12°, Max. 17° C. — 5 Juli. S. V. Graavejr med Blæst og lidt Regn, Min. 11°, Max. 17° C.

Bægerglassene fra Vinrankerne:

I. Uklar, affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Som det foregaaende, men foruden de nævnte Organismer tillige Penicillium glaucum, Mucor racemosus og Botrytis cinerea.
IV. Som det foregaaende.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende, dog uden Cladosporium herbarum.
III. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
IV. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium cladosporioides, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, smaa Stavbakterier.

Bægerglassene fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Som det foregaaende, dog fandtes her tillige Penicillium glaucum.
III. Som det foregaaende.
IV. do. do.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
III. Som den foregaaende, dog uden Penicillium glaucum.
IV. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Penicillium glaucum og Botrytis cinerea.

5te Juli. 19de Forsøgsrække.

8 Vakuums-Kolber bleve aabnede i Maskdampene. Vejrlig og Temperatur: S. V. Graavejr med Blæst og lidt Regn, Min. 10°, Max. 17° C.
I. Uklar, noget affarvet, gulladen. Smaa gjærsvampelignende Celler.
II. Som den foregaaende.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

23de—25de Juli. 20de Forsøgsrække.

8 Bægerglas og 8 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Nogle Frugter paa de sidstnævnte Træer vare modne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 23 Juli. S.O. Solskin og Graat, Min. 16°, Max. 25° C. — 24 Juli. V. Graat med Blæst og Regn, Min. 13°, Max. 16° C. — 25 Juli. V. & N.V. Graat med Storm og lidt Regn, Min. 12°, Max. 18° C.

Bægerglassene fra Vinrankerne:

I. Uklar, affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, affarvet, noget gulladen. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med



»Gemmen«, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.

IV. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Temmelig klar, kun lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.

Bægerglassene fra Kirsebærtræerne:

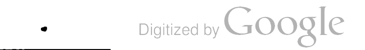
I. Uklar, noget affarvet, gulladen. Oidium lactis, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.
II. Som det foregaaende.
III. do. do.
IV. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Oidium lactis Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus, Bacterium Kochii, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Oidium lactis, Saccharomyces apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. Uklar, affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Oidium lactis, Mycelium med »Gemmen«, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.
IV. Uklar, affarvet, noget gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.

25de Juli. 21de Forsøgsrække.

16 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne og i Maskdampene; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: V. og N.V. Graat med Storm og lidt Regn, Min. 12°, Max. 18° C.



Kolberne fra Vinrankerne:

I. Brunladen, lidt uklar. Gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
de øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Dematium pullulans.
II. Som den foregaaende.
III. Brun, lidt uklar. Gjærceller, som nærmest ligne Saccharomyces cerevisiæ.
IV. Brun, lidt uklar. Smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
De øvrige 4 bleve ikke inficerede.

6te—8de August. 22de Forsøgsrække.

8 Bægerglas og 8 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vinrankerne havde afblomstret, Kirsebærrene vare modne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 6 Aug. S. O. Graat med Blæst, om Aftenen stærk Regn, Min. 13°, Max. 23° C. — 7 Aug. S. V. Solskin med Graavejr og Blæst, Min. 12°, Max. 23° C. — 8 August. S.V. Solskin med Graavejr og Blæst, Min. 15°, Max. 23° C.

Bægerglassene fra Vinrankerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Mycoderma aceti, Bacterium pyriforme, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som det foregaaende. Foruden de nævnte Organismer dog tillige Mycelium med »Gemmen« og Saccharomyces Pastorianus.
III. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.
IV. Som det foregaaende. Foruden de nævnte Organismer dog tillige Dematium pullulans.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Mucor racemosus, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampe-

lignende Celler; vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Som den foregaaende.

III. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

IV. Temmelig klar, kun lidt affarvet, brunladen. Botrytis cinerea, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

Bægerglassene fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Saccharomyces apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Som det foregaaende; dog foruden de nævnte Organismer tillige Penicillium glaucum og Dematium pullulans.

III. Som det foregaaende, men uden Penicillium glaucum.

IV. Som det foregaaende.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Temmelig klar, brunladen. Mycelium med »Gemmen«, Saccharomyces Mycoderma, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Saccharomyces Mycoderma, Sacch. apiculatus, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.

III. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium, pullulans, Oidium lactis, Saccharomyces Pastorianus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.

IV. Uklar, affarvet, gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces apiculatus, smaa Stavbakterier.

8de August. 23de Forsøgsrække.

16 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne og i Maskdampene; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. Solskin med Graavejr og Blæst, Min. 15°, Max. 23° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.

II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.

III. Som den foregaaende.

IV. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.

De øvrige 4 bleve ikke inficerede.



Kolberne fra Maskdampene:

I. Uklar, affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, smaa Gjærceller, der maaske høre til Saccharomyces cerevisiæ, Baciller.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

25de August. 24de Forsøgsrække.

16 Vakuums-Kolber blevne aabnede under Vinrankerne og i Maskdampene; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. Solskin og Graat, Min. 8°, Max. 22° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Temmelig klar, brunladen. Cladosporium herbarum, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 1—37, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte).
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Som den foregaaende.
IV. Klar, brun. Dematium pullulans.
V. Som den foregaaende.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

25de—27de August. 25de Forsøgsrække.

6 Bægerglas og 10 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. De førstnævnte havde meget smaa, aldeles umodne Frugter; Kirsebærrene vare fuldkommen modne, men for største Delen afplukkede. Vejrlig og Temperatur i Haven: 25 Aug. S. V. Solskin og Graat, om Natten stærke Regnbyger, Min. 8°, Max. 22° C. — 26 Aug. S. V. Solskin og Blæst, Min. 10°, Max. 23° C. — 27 Aug. SV. Solskin og Blæst, Min. 10°, Max. 20° C.

Bægerglassene fra Vinrankerne:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch.

Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, affarvet, brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III), Saccharomyces Pastorianus, Baciller, smaa Stavbakterier.

III. Uklar, affarvet, gulladen. Mucor racemosus, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Baciller, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Temmelig uklar, lidt affarvet, brunladen. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, affarvet, noget gulladen. Mucor racemosus, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, smaa Stavbakterier.

III. Som den foregaaende.

IV. Uklar, affarvet, gulladen. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.

V. Som den foregaaende; dog uden Cladosporium herbarum.

Bægerglassene fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Mycelium med »Gemmen«, Oidium lactis, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus, Bacterium Carlsbergense, smaa Stavbakterier.

II. Som det foregaaende; foruden de nævnte Organismer fandtes dog tillige Penicillium glaumcum.

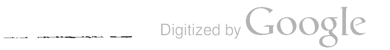
III. Uklar, affarvet, noget gulladen. Mycelium med »Gemmen«, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces apiculatus, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.

II. Uklar affarvet gulladen. Oidium lactis, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakter er.

III. Uklar, affarvet, gulladen. Mycelium med »Gemmen«, Oidium lactis, Saccharomyces Mycoderma, Sacch. apiculatus, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.



IV. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.
V. Uklar, affarvet, gulladen. Saccharomyces Mycoderma, Sacch. apiculatus, Mycoderma aceti, Baciller, smaa Stavbakterier.

10de—12te Septbr. 26de Forsøgsrække.

6 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne. Frugterne vare tilstede i temmelig Mængde, men aldeles umodne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 10 Septbr. S. Solskin og Graat med lidt Regn og Blæst, Min. 13°, Max. 18° C. — 11 Septbr. S. O. Om Morgenen stærk Regn, senere Solskin og Graat, Min. 11°, Max. 25° C. — 12 Septbr. S. & S. O. Solskin med lidt Blæst, Min. 12°, Max. 20° C.

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. Pastorianus, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. Som de 3 foregaaende; dog fandtes her foruden de nævnte Organismer Botrytis cinerea og smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
VI. Som den foregaaende.

10de Septbr. 27de Forsøgsrække.

18 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne og i Maskdampene; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. Solskin og Graat med lidt Regn og Blæst, Min. 13°, Max. 18° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar og brun. Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. Temmelig klar, brunladen. Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

4de—6te Novbr. 28de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. De førstnævnte havde bevaret det Meste af Løvet, Frugterne vare endnu ikke blevne modne. Kirsebærtræerne havde mistet Frugterne og det Allermeste af Løvet. Vejrlig og Temperatur i Haven: 4 Novbr. N.V. Solskin, Min. 2°, Max. 10° C. — 5 Novbr. S. V. Graat med Blæst og lidt Regn, Min. 2°, Max. 8° C. — 6 Novbr. N. V. & V. Om Morgenen Hagl, senere Solskin, Min. 2°, Max. 8° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Temmelig uklar, noget affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
IV. Temmelig klar, brunladen. Botrytis cinerea, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
V. Temmelig klar, brunladen. Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Dematium pullulans, Saccharomyces apiculatus, smaa Stavbakterier.
VI. Uklar, affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VII. Som den foregaaende.
VIII. do. do.
XI. do. do.
X. do. do.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, noget affarvet, lidt gulladen. Botrytis cinerea, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
III. Temmelig uklar, noget affarvet, lidt gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.
IV. Temmelig uklar, noget affarvet, lidt gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
V. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VI. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Penicillium glaucum, Botrytis cinerea og Dematium pullulans.
VII. Temmelig uklar, noget affarvet, lidt gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VIII. Uklar, affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 1—37, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte), smaa Stavbakterier.
IX. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer fandtes her dog tillige Penicillium glaucum og en Form nærmest henhørende til Slægten Dendrodochium, Bonorden's Handb.
X. Temmelig klar, brun. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).

6te Novbr. 29de Forsøgsrække.

20 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: N.V. & V. Om Morgenen Hagl, senere Solskin, Min. 2°, Max. 8° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.

IV. Som den foregaaende.
V. Uklar, brunladen. Meget smaa, gjærsvampelignende Celler.
VI. Klar, brun. Penicillium glaucum.
De øvrige 4 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Noget uklar, brunladen. Gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

1ste Decbr. 30te Forsøgsrække.

20 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: N. Solskin, Min. ÷ 10⁰, Max. ÷ 4⁰ C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. Klar, brun. Bacillus ruber.
IV. Klar, brun. Dematium pullulans.
V. Som den foregaaende.
de øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, affarvet, noget gulladen. Smaa Stavbakterier.
II. Uklar, brunladen. Smaa gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til en Dematiumart.
III. Brunladen, uklar. Smaa Stavbakterier.
IV. Brun, klar. Ubestemmeligt Mycelium.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

6te—8de Januar 1880. 31te Forsøgsrække.

10 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne. Druerne vare ikke blevne modne; der hang Klaser med indskrumpede, brunladne Bær. Vejrlig og Temperatur i Haven: 6 Jan. S. & S.V. Graat, Min. 0°, Max. 4° C. — 7 Jan. N.V. Solskin, klart Vejr, Min. 1°, Max. 4° C. — 8 Jan. S.V. Om Morgenen Klart, senere Graat, Min. ÷ 1°, Max. 4° C.

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (nærmest som Fig. 1—37, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte), Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Baciller, smaa Stavbakterier.

III. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

IV. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til den foregaaende eller en Art af Slægten Dematium, Baciller, smaa Stavbakterier.

V. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

VI. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

VII. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

VIII. Som den foregaaende, dog uden Mucor stolonifer.

IX. do. do.

X. Temmelig klar, brunladen. Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til den foregaaende eller til en Art af Slægten Dematium.

6te Januar. 32te Forsøgsrække.

30 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Maskdampene; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. & S.V. Graat, Min. 0°, Max. 4° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Som den foregaaende.
IX. Klar, brun. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
Den 10de Kolbe blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. Noget uklar, lidt affarvet, gulladen. Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Noget uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Gjærceller, maaske hørende til Saccharomyces cerevisiæ.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium,
III. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
De øvrige 7 bleve ikke inficerede.

2den Febr. 33te Forsøgsrække.

30 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Maskdampene; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S.V. Solskin, Min. ÷ 5°, Max. ÷ 4° C

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
II. Som den foregaaende.
III. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
IV. Som den foregaaende.
V. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.

VI. Klar, brun. Gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
VII. Klar, brun. Penicillium glaucum.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Mycelium med »Gemmen«.
II. Som den foregaaende.
III. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
IV. Som den foregaaende.
V. do. do.
VI. Klar, brun. En Skimmelform, der nærmest maa bestemmes som en Art af Slægten Monilia Hill. — Fries.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
VIII. Klar, brun. Dematium pullulans.
IX. Klar, brun. Penicillium glaucum.
X. Klar, brun. Penicillium glaucum, smaa Stavbakterier.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Gjærsvampelignende Celler.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler.
III. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
De øvrige 7 bleve ikke inficerede.

2den—4de Febr. 34te Forsøgsrække.

10 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 2 Febr. S.V. Solskin, Min. $\div$ 5°, Max. $\div$ 4° C. — 3 Febr. S.V. Graat og taaget, Min. $\div$ 1°, Max. 1° C. — 4 Febr. S.V. Graat og taaget, Min. 1°, Max. 2° C.

I. Uklar, affarvet, noget gulladen. Eurotium Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, brunladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. Pastorianus.
III. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
IV. Temmelig klar, brun. Eurotium Aspergillus glaucus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
V. Temmelig klar, brunladen. Aspergillus fumigatus, Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, De-

matium pullulans, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 1—37, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte).

VI. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til en Art af Slægten Dematium.

VII. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

VIII. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.

IX. Som den foregaaende.

X. Som den nærmest foregaaende; foruden de nævnte Organismer, dog tillige Botrytis cinerea.

1ste Marts. 35te Forsøgsrække.

30 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Maskdampene; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. Graat med lidt Regn, Min. 4°, Max. 7° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

Ingen af de 10 Kolber bleve inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.

II. Klar, brun. Smaa, runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
De øvrige 8 bleve ikke inficerede.

1ste—3die Marts. 36te Forsøgsrække.

10 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Marts. S. V. Graat med lidt Regn, Min. 4°, Max. 7° C. — 2 Marts. S. V. Graat med temmelig stærk Blæst,

Min. 2°, Max. 6° C. — 3 Marts. S.V. Graat med Blæst og nogen Regn, Min. 1°, Max. 8° C.

I. Uklar, affarvet, lidt gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til en Art af Slægten Dematium, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Som den foregaaende.

III. do. do.

IV. do. do.

V. do. do.

VI. do. do.

VII. Som den foregaaende, dog uden typiske Dematium pullulans.

VIII. Som den foregaaende; men foruden de i denne værende Organismer fandtes her tillige Penicillium glaucum og Dematium pullulans.

IX. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

X. Uklar, affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

1ste April. 37te Forsøgsrække.

30 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Maskdampene; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: N.O. Solskin, med skarp tør Blæst, Min. 1°, Max. 9° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, brunladen. Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.

III. Som den foregaaende.

IV. do. do.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, Penicillium glaucum.

II. Som den foregaaende, dog uden Penicillium glaucum.
De øvrige 8 bleve ikke inficerede.

1ste—3die April. 38te Forsøgsrække.

10 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 April. N. O. Solskin med skarp, tør Blæst, Min. 1°, Max. 9° C. — 2 April. N. O. Graat med Blæst og lidt Regn, Min. 1°, Max. 7° C. — 3 April. S.O. & O. Graat med Blæst, Min. 1°, Max. 6° C.

I. Uklar, affarvet, lidt gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende, dog uden Penicillium glaucum.
III. Uklart, affarvet, lidt gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
IV. Som den foregaaende.
V. Uklar, affarvet, lidt gulladen. Mycelium med »Gemmen«, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
VI. Lidt uklar, brun. Mycelium med »Gemmen«, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, rødlige, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til en Art af Slægten Dematium.
VII. Temmelig klar, brun. Mucor racemosus, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
VIII. Som den foregaaende.
IX. Brunladen, noget uklar. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
X. Uklar, affarvet, lidt gulladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

1ste Maj. 39te Forsøgsrække.

30 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Maskdampene; 10 paa hvert Sted. Vejrlig



og Temperatur i Haven: O. & N. O. Solskin med Blæst, Min. 3°, Max. 15° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
De øvrige 7 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. Klar, brun. Penicillium glaucum.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maskdampene:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
De øvrige 7 bleve ikke inficerede.

1ste—3die Maj. 40de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Maj. O. & N. O. Solskin med Blæst, Min. 3°, Max. 15° C. — 2 Maj. O. Solskin, Min. 6°, Max. 19° C. — 3 Maj. S. & O. Solskin med tør Blæst, Min. 5°, Max. 19° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Brun, lidt uklar. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, en Form nærmest hørende til Slægten Arthrobotrys, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende, dog uden Penicillium glaucum.
III. Brun, lidt uklar. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
IV. Brun, lidt uklar. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, en Form nærmest hørende til Slægten Arthrobotrys.

V. Brun, lidt uklar. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

VI. Brun, lidt uklar. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, en Form nærmest hørende til Slægten Arthrobotrys, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakterier.

VII. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

VIII. Klar, brun. Dematium pullulans, brungrønt Mycelium, vistnok hørende til Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.

IX. Klar, brun. Eurotium Aspergillus glaucus, Cladosporium herbarum, en Form nærmest hørende til Slægten Arthrobotrys, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 38—39, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte).

X. Brun, lidt uklar. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, en Form nærmest hørende til Slægten Arthrobotrys, Mycelium med »Gemmen«.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Noget uklar, lidt affarvet, brunladen. Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Noget uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.

III. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

IV. Uklar, brun. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakterier.

V. Noget uklar, brun. Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 38—39, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte), smaa Stavbakterier.

VI. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

VII. Temmelig klar, brun. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.



VIII. Noget uklar, brun. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjæsvampelignende Celler, smaa Stavbakterier.

IX. Uklar, brunladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler (Fig. 38–39, Tavle II, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 2det Hefte), smaa Stavbakterier.

X. Uklar, brun. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, gjærsvampelignende Celler, smaa Stavbakterier.

1ste Juni. 41de Forsøgsrække.

50 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne, i Gammel Carlsberg's Undergjæringskjælder F, i sammes pneumatiske Maltgjøreri og i Bryggeriet N's Undergjæringskjælder A; 10 paa hvert Sted. Kirsebærtræerne havde umodne Frugter, Vinrankerne udviklet Løv. Vejrlig og Temperatur i Haven: N. O. & O. Solskin med tør Blæst, Min. 11°, Max. 20° C.

Temperaturen i Kjælderen F var 4° C., i Maltgjøreriet 11° C. i Kjælderen A 11° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
VII. Som den foregaaende.
VIII. Lidt uklar, brunladen. Gjærsvampelignende Celler.
De øvrige 2 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Uklar, brunladen. Saccharomyces cerevisiæ.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maltgjøreriet:

I. Temmelig klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
II. Klar, brun. Penicillium glaucum.
III. Som den foregaaende.
IV. Klar, brun. Aspergillus glaucus.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. do. do.
IX. do. do.
X. do. do.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Uklar, brun. Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI).
II. Som den foregaaende, men her tillige et ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Penicillium glaucum.
IV. Uklar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
V. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VI. Som den foregaaende.
VII. do. do.
VIII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
IX. Som den foregaaende.
Den 10de Kolbe blev ikke inficeret.

1ste—3die Juni. 42de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Juni. N. O. & O. Solskin med tør Blæst, Min. 10°, Max. 20° C. — 2 Juni. O. Solskin med tør Blæst, Min. 10°, Max. 23° C. — 3 Juni. O. & N. O. Solskin med tør Blæst, Min. 10°, Max. 25° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, brun. Mucor stolonifer, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces Mycoderma.

II. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Cladosporium herbarum.

III. Uklar, brun. Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

IV. Uklar, brun. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

V. Uklar, brun. Mucor stolonifer, et ubestemmeligt grønligt Mycelium.

VI. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Mycelium med »Gemmen« og gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

VII. Brun, lidt uklar. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Oidium lactis, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma.

VIII. Brun, uklar. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, rødfarvede, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til Saccharomyces glutinis.

IX. Brun, noget uklar. Penicillium glaucum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

X. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Mucor stolonifer og Cladosporium herbarum.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, brun. Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus.

III. Uklar, brun. Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

IV. Uklar, brun. Penicillium glaucum, Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus.

V. Uklar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

VI. Som den foregaaende.

VII. do. do.



VIII. Uklar, affarvet, gulladen. Mucor stolonifer, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

IX. Temmelig klar, brun; Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

X. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, Baciller, smaa Stavbakterier.

1ste Juli. 43de Forsøgsrække.

60 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne, i Gammel Carlsberg's Undergjæringskjælder F, i sammes pneumatiske Maltgjøreri, i en Gang, som udefra fører ind til sidstnævnte, og i Bryggeriet N's Undergjæringskjælder A; 10 paa hvert Sted. Vinrankerne havde endnu ikke faaet Blomster og Kirsebærtræernes Frugter vare endnu umodne. Vejrlig og Temperatur i Haven: V. Solskin og Graat, Min. 12°, Max. 26° C.

Temperaturen i Kjælderen F var 4,5° C., i Maltgjøreriet 16° C., i Gangen 18° C., i Kjælderen A 11° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
VIII. Klar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
IX. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
Den 10de blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.

V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
IX. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.
Den 10de blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maltgjøreriet:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. do, do.
IX. Klar, brun. Aspergillus glaucus.
X. Som den foregaaende.

Kolberne fra Gangen:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer fanddog tillige Cladosporium herbarum.
III. Klar, brun. Penicillium glaucum.
IV. Som den foregaaende.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Uklar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. do. do.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Temmelig klar, brunladen. Saccharomyces cerevisiæ.
II. Temmelig klar, brunladen. Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Torula Pl. XI.).
III. Som den foregaaende.
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. do. do.

1ste—3die Juli. 44de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Juli. V. Solskin og Graat, Min. 12°, Max. 26° C. — 2 Juli. V. Solskin og Graat, svag Blæst, Min. 13°, Max. 24° C. — 3 Juli. S. Solskin, Min. 11°, Min. 25° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, noget affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende, dog uden Mycelium med »Gemmen«.
III. Temmelig klar, brun. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
IV. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Botrytis cinerea.
V. Uklar, brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VI. Som den foregaaende.
VII. do. do.
VIII. do. do.
IX. Klar, brun. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
X. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
IX. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.
Den 10de blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maltgjøreriet:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. do, do.
IX. Klar, brun. Aspergillus glaucus.
X. Som den foregaaende.

Kolberne fra Gangen:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer fandtes dog tillige Cladosporium herbarum.
III. Klar, brun. Penicillium glaucum.
IV. Som den foregaaende.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Uklar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. do. do.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Temmelig klar, brunladen. Saccharomyces cerevisiæ.
II. Temmelig klar, brunladen. Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Torula Pl. XI.).
III. Som den foregaaende.
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. do. do.

1ste—3die Juli. 44de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Juli. V. Solskin og Graat, Min. 12°, Max. 26° C. — 2 Juli. V. Solskin og Graat, svag Blæst, Min. 13°, Max. 24° C. — 3 Juli. S. Solskin, Min. 11°, Min. 25° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, noget affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende, dog uden Mycelium med »Gemmen«.
III. Temmelig klar, brun. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
IV. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Botrytis cinerea.
V. Uklar, brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VI. Som den foregaaende.
VII. do. do.
VIII. do. do.
IX. Klar, brun. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans.
X. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, noget affarvet, gulladen. Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
IX. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
X. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Bacillus ruber, smaa Stavbakterier.

2den August. 45de Forsøgsrække.

30 Vakuumskolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Bryggeriet N's Undergjæringskjælder A; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. & S. Solskin, Min. 8°, Max. 24° C.

Temperaturen i Kjælderen A var 10° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
IV. Temmelig klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler.

V. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Uklar, brun. Penicillium glaucum, en Alkoholgjærsvamp, der nærmest maatte henføres til Saccharomyces ellipsoideus.
II. Uklar, lidt affarvet, gulladen. Saccharomyces Mycoderma, smaa Stavbakterier.
III. Uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III), smaa Stavbakterier.
IV. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
V. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VI. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VIII. Temmelig klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til Dematium pullulans.
De øvrige 2 bleve ikke inficerede.

2den—4de August. 46de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 2 Aug. S. V. & S. Solskin, Min. 8°, Max. 24° C. — 3 Aug. N. V. & S. V. Solskin og Graat, Min. 10°, Max. 27° C. — 4 Aug. S. & S. O. Solskin, Min. 11°, Max. 24° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Temmelig klar, brunladen. Mucor racemosus, Cladosporium herbarum, Saccharomyces exiguus, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, affarvet brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
VII. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.

VIII. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.

IX. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, smaa runde gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III), Baciller, smaa Stavbakterier.

X. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, brun. Dematium pullulans, Saccharomyces apiculatus, smaa Stavbakterier.

II. Uklar, brun. Cladosporium herbarum, Saccharomyces apiculatus, smaa Stavbakterier.

III. Uklar, lidt affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Saccharomyces Mycoderma, Baciller, smaa Stavbakterier.

IV. Klar, brun. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler.

V. Temmelig klar, brunladen. Aspergillus glaucus, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

VI. Uklar, affarvet, gulladen. Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.

VII. Som den foregaaende.

VIII. do. do.

IX. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer, dog tillige Penicillium glaucum.

X. Som den foregaaende; men uden Botrytis cinerea.

1ste Septbr. 47de Forsøgsrække.

30 Vakuumskolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne og i Bryggeriet N's Undergjæringskjælder A; 10 paa hvert Sted. Kirsebærtræerne havde mistet Frugterne, Vindruerne vare umodne. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. Solskin med lidt Blæst, Min. 15°, Max. 27° C.

Temperaturen i Kjælderen A var 12°,5 C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.

II. Som den foregaaende.

III. Temmelig klar, brun. Cladosporium herbarum, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
IV. Uklar, affarvet, gulladen. Cladosporium herbarum, Mycelium med »Gemmen«, Baciller, smaa Stavbakterier.
V. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VI. Som den foregaaende.
VII. do. do.
VIII. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.
IX. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum. Den 10de blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. Noget uklar, brunladen. Cladosporium herbarum, smaa Stavbakterier.
VI. Som den foregaaende.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
IX. Noget uklar, lidt affarvet, brunladen. Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.
X. Klar, brun. En Skimmelsvamp, vistnok hørende til Slægten Arthrobotrys.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI), smaa Stavbakterier.
II. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI).
III. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. glutinis.
IV. Klar, brun. Penicillium glaucum.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. Uklar, brunladen. Penicillium glaucum, Sarcina.

IX. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
X. Klar, brun. Cladosporium herbarum.

1ste—3die Septbr. 48de Forsøgsrække.

20 Kogeflasker bleve stillede under Vinrankerne og Kirsebærtræerne; Halvdelen paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: 1 Septbr. S. Solskin med lidt Blæst, Min. 15°, Max. 27° C. — 2 Septbr. V. Solskin med lidt Blæst, Min. 13°, Max. 27° C. — 3 Septbr. V. & N. V. Solskin med lidt Blæst, Min. 11°, Max. 25° C.

Flaskerne fra Vinrankerne:

I. Uklar, lidt affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Uklar, lidt affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces apiculatus, smaa Stavbakterier.
IV. Uklar, noget affarvet, gulladen. Penicillium glaucum Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. exiguus, Baciller, smaa Stavbakterier.
V. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Baciller, smaa Stavbakterier.
VI. Som den foregaaende; dog foruden de nævnte Organismer tillige gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
VII. Som den foregaaende.
VIII. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Baciller, smaa Stavbakterier.
IX. Som den foregaaende.
X. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Mucor racemosus.

Flaskerne fra Kirsebærtræerne:

I. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.

III. Som de foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Saccharomyces cerevisiæ.
IV. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces Pastorianus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.
V. Som den foregaaende; foruden de nævnte Organismer dog tillige Saccharomyces cerevisiæ.
VI. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. apiculatus, smaa Stavbakterier.
VII Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.
VIII. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces Pastorianus, Sacch. apiculatus, Baciller, smaa Stavbakterier.
IX. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.
X. Uklar, lidt affarvet, noget gulladen. Cladosporium herbarum, Oidium lactis, Saccharomyces ellipsoideus, Baciller, smaa Stavbakterier.

1ste Oktbr. 49de Forsøgsrække.

60 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne, i Gammel Carlsberg's Undergjæringskjælder F, i Bryggeriet N's Undergjæringskjældere A, E og I; 10 paa hvert Sted. Nogle faa af Druerne vare modne. Vejrlig og Temperatur i Haven: V. Graat med lidt Blæst, Min. 7°, Max. 14° C.

Temperaturen i Kjælderen F var 2,5° C., i Bryggeriet N's Kjældere A 11,5° C., E. 10° C., I 8,5° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
VII. do. do.
VIII. do. do.
IX. Klar, brun. Penicillium glaucum.
Den 10de blev ikke inficeret.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Uklar aflarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
III. Temmelig klar, brunladen. smaa Stavbakterier.
De øvrige 7 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Lidt uklar, brunladen. Cladosporium herbarum, Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI), smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. Lidt uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces cerevisiæ, Baciller, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.
IV. Uklar, brunladen. Saccharomyces Mycoderma, smaa Stavbakterier.
V. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Saccharomyces glutinis.
VI. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VII. Som den foregaaende.
VIII. do. do.
IX. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
X. Som den foregaaende.

Kolberne fra Kjælderen E:

I. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
II. Klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum.
III. Klar, brun. Penicillium glaucum.
IV. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
V. Som den foregaaende.
VI. do. do.
De øvrige 4 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen I:

I. Lidt uklar, brunladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI).
II. Lidt uklar, brunladen. Saccharomyces Pastorianus (Pasteur's Pl. XI), smaa Stavbakterier.
III. Uklar, lidt affarvet, brunladen. Saccharomyces cerevisiæ. Sacch. Mycoderma, smaa Stavbakterier.
IV. Som den foregaaende.
V. Som den foregaaende, dog uden Saccharomyces Mycoderma.
VI. Lidt uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces cerevisiæ, Mycoderma aceti, smaa Stavbakterier.
VII. Lidt uklar, brunladen. Penicillium glaucum, Saccharomyces cerevisiæ, smaa Stavbakterier.
VIII. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, smaa Stavbakterier.
IX. Temmelig klar, brun. Smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
X. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.

8de Novbr. 50de Forsøgsrække.

80 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne, i Gammel Calsberg's Undergjæringskjælder F, i sammes pneumatiske Maltgjøreri, i en Gang, som udenfra fører ind til sidstnævnte, i Bryggeriet N's Undergjæringskjældere A, E og I; 10 paa hvert Sted. Vinrankerne havde endnu enkelte modne Druer og noget i Reglen vissent Løv. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. & N. V. Taaget, Min. 5°, Max. 7° C.

Temperaturen i Kjælderen F var 3° C., i Maltgjøreriet 12,5° C., i Gangen 12,5° C., i Kjælderen A 7,5° C., i Kjælderen E 7,5° C. og i Kjælderen I 7° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Lidt uklar, brunladen. Gjærsvampelignende Celler, der havde en vis Lighed med Chalara Mycoderma. Om deres fysiologiske Virksomhed se »Resultater« p. 411.
II. Brun, lidt uklar. Rødfarvede, gjærsvampelignende Celler. Nærmere Beskrivelse findes i »Resultater« p. 412.
III. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
IV. Klar, brun. Dematium pullulans.
V. Som den foregaaende.

VI. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VII. Som den foregaaende.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maltgjøreriet:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. Lidt uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
VI. Temmelig klar, brun. Aspergillus glaucus, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til en Art Dematium.
VII. Temmelig klar, brun. Gjærsvampelignende Celler. (Se »Resultater« p. 409).
VIII. Temmelig klar, brunladen. Penicillium glaucum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
IX. Klar, brun. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler.
X. Klar, brun. Penicillium glaucum.

Kolberne fra Gangen:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. Uklar, brunladen. Rødfarvede, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til en Art Dematium.
VII. Uklar, brunladen. Cladosporium herbarum, gjærsvampelignende Celler, smaa Stavbakterier.
VIII. Uklar, brunladen. Penicillium glaucum, Penicil. cladosporioides, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til Dematium pullulans.

IX. Lidt uklar, brunladen. Gjærsvampelignende Celler og vandgraat Mycelium, vistnok hørende til Dematium pullulans.
X. Som den foregaaende.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Klar, brun. Gjærsvampelignende Celler.
II. Som den foregaaende.
III. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Dematium pullulans, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
IV. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
V. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VI. Som den foregaaende.
VII. do. do.
De øvrige 3 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen E:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
II. Lidt uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III), Saccharomyces ellipsoideus, Sacch. Mycoderma.
III. Lidt uklar, brun. Smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
IV. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
V. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
De øvrige 5 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen I:

I. Lidt uklar, brunladen. Saccharomyces Pastorianus.
II. Klar, brun. Penicillium glaucum.
III. Som den foregaaende.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. Lidt uklar, brunladen. Penicillium glaucum, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til en Art af Slægten Dematium. (Se »Resultater« p. 409).
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
IX. Som den foregaaende.
X. do. do.

6te Decbr. 51de Forsøgsrække.

80 Vakuums-Kolber bleve aabnede under Vinrankerne, under Kirsebærtræerne i Gammel Carlsberg's Undergjæringskjælder F, i sammes pneumatiske Maltgjøreri, i en Gang, som udenfra fører ind til sidstnævnte, i Bryggeriet N's Undergjæringskjældere A, E og I; 10 paa hvert Sted. Vejrlig og Temperatur i Haven: S. V. Taaget, fugtig Luft, Min. 2°, Max. 5° C.

Temperaturen i Kjælderen F var 3° C., i Maltgjøreriet 9° C., i Gangen 9° C., i Kjælderen A 5,5° C., i Kjælderen E 5° C. og i Kjælderen I 5° C.

Kolberne fra Vinrankerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium og gjærsvampelignende Celler, begge maaske hørende til Dematium pullulans.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kirsebærtræerne:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
De øvrige 9 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen F:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
De øvrige 8 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Maltgjøreriet:

I. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
II. Som den foregaaende.
III. do. do.
IV. do. do.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. Temmelig klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til Dematium pullulans.

Kolberne fra Gangen:

I. Uklar, affarvet, gulladen. Penicillium glaucum, gjærsvampelignende Celler, maaske hørende til Dematium pullulans, smaa Stavbakterier.

II. Noget uklar, brun. Penicillium glaucum, gjærsvampelignende Celler, vistnok hørende til Dematium pullulans.
III. Uklar, affarvet, gulladen. Ubestemmeligt Mycelium, Baciller, smaa Stavbakterier.
IV. Uklar, lidt affarvet, gulladen. Smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III), Baciller, smaa Stavbakterier.
V. Uklar, affarvet, gulladen. Baciller, smaa Stavbakterier.
VI. Klar, brun. Penicillium glaucum.
VII. Som den foregaaende.
VIII. do. do.
IX. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
X. Som den foregaaende.

Kolberne fra Kjælderen A:

I. Klar, brun. Penicillium glaucum.
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
IV. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.
De øvrige 6 bleve ikke inficerede.

Kolberne fra Kjælderen E:

I. Uklar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, Saccharomyces cerevisiæ, Sacch. Mycoderma.
II. Temmelig klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
III. Klar, brun. Penicillium glaucum.
IV. Som den foregaaende.
V. do. do.
VI. do. do.
VII. Klar, brun. Ubestemmeligt Mycelium.
VIII. Som den foregaaende.
IX. do. do.
X. Temmelig klar, brunladen. Ubestemmeligt Mycelium, smaa Stavbakterier.

Kolberne fra Kjælderen I:

I. Temmelig klar, brun. Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, smaa runde, gjærsvampelignende Celler (Pasteur's Torula Pl. III).
II. Klar, brun. Cladosporium herbarum.
III. Som den foregaaende.

IV.	Klar, brun.	Penicillium glaucum.
V.	Klar, brun.	Ubestemmeligt Mycelium.
VI.	Som den foregaaende.	
VII.	do.	do.
VIII.	do.	do.
IX.	do.	do.
X.	do.	do.

Carlsberg Laboratoriet.

April 1882. (Fortsættelse; see Side 292).

I Laboratoriets Bestyrelse: Professor Barfoed, Formand, Kaptajn Jacobsen, Brygger Kogsbolle, Professor Panum og Etatsraad Steenstrup, er ingen Forandring skeet, idet de tre af dens Medlemmer, hvis Funktionstid ifølge Statuterne udløb i 1880 og 1881, nemlig Dhrr. Etatsraad Steenstrup, Kaptajn Jacobsen og Brygger Kogsbollle, gjenvalgtes af Videnskabernes Selskab og modtoge Valget.

Forstanderposterne ved Laboratoriet beklædes fremdeles ved den kemiske Afdeling af Hr. Joh. Kjeldahl, og ved den fysiologiske Afdeling af Hr. Dr. ph. Emil Chr. Hansen.

Ved Udgangen af Aaret 1880 fratraadte Hr. Kandidat V. Rosing Assistentposten ved Laboratoriets fysiologiske Afdeling, for at gaae over til det praktiske Bryggeri. Som hans Eftermand blev Hr. polyteknisk Kandidat L. Knudsen ansat fra 1. Oktober s. A. — Den 1. Februar 1881 fratraadte Hr. Kandidat A. Weis Assistentposten ved den kemiske Afdeling, for at overtage en Inspektørpost ved Carlsberg Bryggeri. Efter at have staaet ledig et Par Maaneder, blev Posten fra 1. Mai besat med Hr. farmaceutisk Kandidat W. Johannsen, og da Hr. Johannsen strax derefter paabegyndte en Undersøgelse af Byg, som vilde lægge Beslag paa Størstedelen af hans Tid og Arbejde, blev endvidere Hr. polyteknisk Kandidat Ph. Gram fra 21. Mai s. A. ansat som Assistent ved den kemiske Afdeling.

Fra Slutningen af forrige Aar har Laboratoriet to faste Karle.

Til Instrumenter, Apparater o. desl. er i de to sidste Regnskabsaar, 1. Oktober 1879—30 September 1881, tilsammen anvendt omtrent 4124 Kroner, og ligesaa til Bøger omtrent 676 Kroner. — Den hele Udgift for Laboratoriet, deri indbefattet samtlige Lønninger til de ved Laboratoriet ansatte Mænd og Udgifter ved Trykningen o. s. v. af »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet«, har i de fem Regnskabsaar, som ere afsluttede siden Carlsbergfondets Stiftelse, udgjort: i Aaret $18^{76}/_{77}$ 10443 Kr. 44 Øre, i $18^{77}/_{78}$ 8930 Kr. 24 Øre, i $18^{78}/_{79}$ 9857 Kr. 2 Øre, i $18^{79}/_{80}$ 14848 Kr. 75 Øre og i $18^{80}/_{81}$ 15208 Kr. 69 Øre.

Af »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet« ere omtrent 250 Exemplarer uddeelte frit til Bibliotheker, forskjellige Institutioner, Videnskabsmænd o. A. i Indlandet og i Udlandet.

Den Side 292 omtalte Marmorbuste af Louis Pasteur er senere ankommen og opstillet i Laboratoriet.

Da Carlsbergfondet ifølge Stifterens i 1879 trufne Bestemmelse allerede fra 25, September s. A. er indtraadt i fuld Rentenydelse af den oprindeligt skjænkede Kapital (Statuterne § I, Side X), har Laboratoriet i de to sidste Regnskabsaar havt den ved Statuterne § IV (Side X) fastsatte Indtægt og derved kunnet oplægge 16533 Kr. 18 Øre som Sparepenge fra disse to Aar (§ IV, andet Stykke). — Ved den Forøgelse af 1 Million Kroner, som Fondets Kapital har modtaget ved Stifterens nye Gavebrev af 22. August 1881, er Laboratoriets aarlige Indtægt indtil Videre forøget med 10000 Kroner (Tillægsstatuter af 25. September 1881, § XXII).

Rettelser til I. Bind.

Side	134,	L. 18 f. o.	20,0	læs	19,5
—	» ,	» 19 og 7 f. n.	9,6	—	9
—	» ,	» 6 f. n.	219	—	233
—	135,	» 1, 2 og 3 f. o.	20	—	19,5
—	» ,	» 2 og 7 f. o.	187	—	182
—	326,	» 4 f. n.	Steder eller	—	Steder oven Jorden eller

LABORATOIRE DE CARLSBERG.

Le laboratoire de chimie et de physiologie annexé à la brasserie de Carlsberg, près de Copenhague, a pour objet de „vérifier par des recherches originales les doctrines déjà établies par la science, et de les développer par des études suivies, de manière à en former une base scientifique aussi complète que possible pour les opérations du maltage, du brassage et de la fermentation.“ Établi en 1875 par le propriétaire de cette brasserie, M. J. C. Jacobsen, qui l'a dirigé lui-même jusqu'à la création du fonds de Carlsberg, le 25 Septembre 1876, il a passé depuis lors sous la direction du comité nommé par l'Académie Royale Danoise des Sciences et des Lettres, conformément aux statuts du fonds. Ce comité se compose de trois membres de l'Académie, MM. les professeurs Barfoed (président), Panum et Steenstrup, et de deux adjoints, MM. Jacobsen et Kogsbølle. Pour le fonds de Carlsberg et ses statuts, voir p. 4—6.

Le laboratoire est installé dans un ancien bâtiment isolé, qui s'élève sur le côté sud de la cour intérieure de la brasserie, dans le voisinage immédiat des ateliers, ce qui facilite beaucoup les recherches. Ce bâtiment occupe un espace de 470 mètres carrés env., et la partie est, qui mesure 280 m. c. env., en a été transformée intérieurement en une série de locaux qui, sur le plan ci-joint, sont désignés par les lettres A, B, C, D, E, F, G, H, I et K, tandis que la partie restante, L et M, n'a subi aucun changement, et est, comme auparavant, utilisée par la brasserie, mais elle est réservée pour l'agrandissement futur du laboratoire, notamment pour des pièces à l'usage des aides, etc.

Le laboratoire comprend deux sections, l'une de chimie et l'autre de physiologie. Elles ont chacune leur local séparé, mais communiquent facilement l'une avec l'autre, comme elles doivent souvent se prêter un mutuel concours. L'explication suivante du plan montre comment sont distribués et arrangés les locaux affectés à chacune de ces sections.

A. Vestibule.

B. Laboratoire de physiologie pour les travaux qui se font dans l'obscurité, etc.

1. Appareil thermostatique à plusieurs chambres. — 2. Machine pneumatique à eau. — 3. Machine de compression.

C. Laboratoire de physiologie pour les travaux microscopiques, etc.
4. Réservoir d'air, en communication avec la pompe foulante en B, et avec une pression hydraulique constante.
D. Chambre pour conserver les préparations.
5. Armoires.
E. Cabinet de travail et chambre des balances.
6. Table en pierre pour les balances de précision.
F. Laboratoire de chimie pour les travaux d'analyse.
7. Cage vitrée et ventilée avec appareil à vapeur, bain de sable, etc. — 8. Cage vitrée et ventilée pour les évaporations, etc. — 9. Table de pierre pour les analyses élémentaires, etc. — 10. Soufflerie et chalumeau à gaz avec pression hydraulique. — 11. Machine pneumatique à eau. — 12. 12. Étuves. — 13. Gazomètres avec écoulement pour l'eau.
G. Laboratoire de chimie pour les travaux moins délicats.
14. Fourneaux fixes pour les opérations de fusion et autres. — 15. Machine pneumatique à mercure (de Ludwig). — 15. Rafraîchisseur pour l'eau distillée, en communication avec la chaudière à vapeur en F. 7. — 17. 17. Cuve à fermentation de Pasteur et cuve à vapeur. — 18. 18. Appareil distillatoire chauffé à la vapeur.
H. Laboratoire de chimie pour les opérations qui se font avec l'hydrogène sulfuré et des gaz analogues. Chambre de lavage et de nettoyage.
19. Cage vitrée et ventilée pour l'appareil à dégagement d'hydrogène sulfuré.
I. Bûcher.
K. Escalier avec sortie sur la cour, et conduisant au magasin du laboratoire.
L.L. Pièces projetées pour l'usage des aides du laboratoire. Elles seront prêtes dans l'été de 1878.
M. Espace destiné à l'agrandissement du laboratoire.

Les locaux ont une hauteur de $3^{m},63$, et sont chauffés par des poêles ventilateurs alimentés d'air frais par des canaux établis sous le plancher. L'air des pièces est aspiré, à travers des grilles dans le plancher et des canaux pratiqués dans les murs de séparation (voir le plan), par des cheminées d'appel qui entourent les tuyaux de cheminée en fonte. On peut aussi renouveler l'air des pièces et des cages vitrées par des ventilateurs disposés sous le plafond et communiquant avec les cheminées d'appel.

Le laboratoire est alimenté d'eau filtrée et de vapeur par la brasserie, et l'usine de Frederiksberg lui fournit le gaz.

Les deux divisions du laboratoire sont bien montées en instruments et en appareils. On y trouve, par exemple, cinq microscopes, dont un de Zeiss, de 700 Couronnes, un de Nachet, de 1000 Cour., et un de Hartnack, de 1500 Cour.; une balance de précision de Jünger, de 485 Cour.; la machine pneumatique à mercure de Ludwig mentionnée plus haut, etc. etc. Qu'on n'ait rien épargné pour que le laboratoire puisse remplir sa destination d'une manière satisfaisante, c'est ce qui résulte du fait que, depuis sa fondation, en 1875, jusqu'à

fin Septembre 1877, il a été dépensé 17,000 Cour. pour le monter et le munir d'instruments, d'appareils, etc.

Les dépenses annuelles du laboratoire peuvent en outre être évaluées jusqu'à nouvel ordre à 12,000 Cour., y compris les traitements du personnel.

Vu l'importance qu'il y a pour la bonne marche des travaux que les chefs du laboratoire demeurent près du laboratoire, on a, dans la brasserie, disposé pour chacun d'eux un logement de garçon gratuit. Ils ont du reste les droits et les obligations qui sont spécifiés dans les statuts du fonds de Carlsberg.[1])

M. Johan Kjeldahl, qui est entré au service du laboratoire en Mai 1875, a été nommé par la direction chef de la section de chimie, qu'il dirige depuis le 1. Octobre 1876. La section de physiologie a été dirigée, depuis la même époque, par M. Rasmus Pedersen, qui avait été attaché au laboratoire en Juillet 1876. Mais le poste de chef de cette dernière section est pour le moment vacant, M. Pedersen ayant donné sa démission à la fin de 1877.

Les travaux exécutés dans le laboratoire sont publiés dans „Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet", dont voici la première livraison.

---

[1]) Pour éclaircir la règle indiquée au § XIII des statuts, relativement au traitement des chefs du laboratoire, nous remarquerons que les professeurs de l'Université, lors de leur nomination, ont un traitement annuel de 3200 Couronnes, qui, après 5, 10, 15, 20 et 25 années de service, est porté respectivement à 3800, 4400, 5000, 5600 et 6000 Cour (1000 Couronnes valent 1400 Francs environ).

FONDS DE CARLSBERG.

A

l'Académie Royale Danoise des Sciences et des Lettres.

A mesure que les travaux des hommes de science enrichissent les industriels de connaissances nouvelles, et leur donnent des notions plus exactes des lois naturelles, on reconnaît de plus en plus la nécessité absolue de ces connaissances et le besoin de les étendre, notamment dans les directions spéciales qui intéressent particulièrement les diverses branches d'industrie.

Mais, comme on ne saurait demander ni attendre des savants attachés aux établissements d'instruction publique, qu'ils s'engagent dans des recherches sur tous les points que les industriels désirent voir éclaircis, on a, dans ces derniers temps, commencé à établir dans plusieurs pays des laboratoires spéciaux, ou, comme on les appelle en Allemagne, des „Versuchsstationen", qui ont pour objet de fournir aux industries correspondantes des connaissances plus complètes et plus approfondies.

Ces établissements ont assurément été d'une grande utilité, également en ce qui concerne l'art du brasseur; mais, en général, ils laissent cependant beaucoup à désirer. En effet, ils ont presque tous le défaut que leur existence est incertaine et n'a qu'un caractère temporaire, ce qui entraîne de fréquentes mutations parmi les savants qui y sont attachés, et dont les études et travaux préparatoires sont par suite exposés à rester stériles. De plus, leur programme est le plus souvent beaucoup trop limité, de sorte qu'ils ne donnent pas l'occasion de développer, et permettent à peine de conserver l'aptitude scientifique générale qu'exige leur direction, et, réciproquement, ce programme comprend quelquefois trop d'autres choses, par ex. un enseignement très élémentaire — comme dans les „Brauschulen" des Allemands — qui ne laisse ni le temps ni la tranquillité nécessaire pour les recherches scientifiques proprement dites, sans parler d'un supplément d'occupations purement industrielles, telles que analyses sur commande, émission de certificats, etc.

Guidé par ces considérations, j'ai, comme annexe à ma brasserie de Carlsberg fondé un laboratoire destiné à des recherches et à des études chimiques et physiologiques, dans les branches des sciences

naturelles qui ont surtout de l'importance pour les opérations du maltage, du brassage et de la fermentation, et ayant pour but non-seulement de fournir à la technique de l'art du brasseur son pain quotidien, mais aussi de donner à ceux qui cultivent la science l'occasion et les moyens de se perfectionner, et de devenir des spécialistes dans les directions que les opérations de la brasserie et les phénomènes qu'elles présentent donneront lieu de poursuivre.

Pour diriger les travaux de ce laboratoire, j'ai engagé M. Kjeldahl comme chimiste, et M. R. Pedersen comme physiologiste. Il leur sera plus tard donné des aides pour les assister, soit dans les séries d'observations et d'analyses qu'il y aura lieu d'entreprendre dans l'intérêt de la technique, soit dans les travaux de laboratoire d'un caractère purement scientifique. Ces aides pourront ainsi, suivant leurs aptitudes et leur vocation, travailler à devenir d'habiles praticiens ou des hommes de science proprement dits.

Par contre, j'ai pensé que le laboratoire ne doit pas être une institution pour des élèves.

Mais comme un pareil établissement, fondé en vue d'études spéciales, ne peut prospérer que s'il s'appuie sur la science et est pénétré de la lumière qui en émane, et que cette lumière a été pour moi une source de bonheur et de bien-être, j'ai à cœur, pour acquitter une partie de ma dette, de contribuer également à l'avancement des sciences en général, notamment dans les branches auxquelles il me semble que l'Etat n'a pas consacré jusqu'ici, ni ne pourra peut-être consacrer à l'avenir tous les moyens nécessaires.

J'ai par là en vue: des honoraires temporaires à de jeunes savants que leurs talents et leur vocation rendent particulièrement aptes à occuper plus tard des postes de docent; des honoraires ou un traitement fixe à des hommes parfaitement préparés pour faire des recherches et des publications scientifiques, et qu'il serait désirable de voir se consacrer entièrement à ces travaux, sans en être détournés par les soins de l'enseignement ou d'autres occupations; des subventions de voyage à des savants d'une réputation déjà bien établie qui, dans des excursions courtes et répétées à l'étranger ou dans des voyages de plus longue durée, pourront recueillir des résultats féconds pour l'érudition danoise; enfin des rétributions pour l'avancement de différents travaux scientifiques, tels que des recherches et des réponses à des questions qu'il importe de résoudre dans un temps donné, etc.

Avec ce but plus étendu devant les yeux, j'ai, à la date de ce jour, sous le nom de „Fonds de Carlsberg", institué un fonds auquel j'ai donné une hypothèque de 1 million de Couronnes sur ma propriété de Carlsberg, lequel capital donnera un intérêt de 5 p% par an, toutefois avec la réserve que cet intérèt ne sera intégralement payé qu'après ma mort et celle de ma femme, et qu'aussi longtemps que l'un de nous vivra, il ne sera servi qu'une rente annuelle de 2 p%. Jusqu'à nouvel ordre, le fonds jouira donc seulement d'un revenu annuel de 20,000 Cour., et ce n'est qu'aprés ma mort et celle de ma femme qu'il disposera de la totalité des intérèts, soit 50,000 Cour.

Mais pour qu'une pareille fondation puisse répondre à sa destination dans le présent et dans l'avenir, il faut lui assurer à perpé-

tuité une direction composée de capacités scientifiques, et, à cet égard, la pensée se porte nécessairement sur la Société où la science danoise a trouvé jusqu'ici et trouvera certainement toujours ses représentants les plus distingués, et qui, chez nous, est la seule institution qui soit indépendante de toute influence étrangère non scientifique, je veux parler de l'Académie Royale Danoise des Sciences et des Lettres.

J'ai donc l'honneur de m'adresser à cet illustre corps, et le prie, en désignant quelques-uns de ses membres pour diriger ma fondation, de vouloir bien en assurer l'existence dans le présent et dans l'avenir, et veiller à ce qu'elle profite toujours à la science et fasse honneur au Danemark.

Afin que l'Académie puisse se faire une idée plus nette de la nature de cette fondation et du plan de son activité, j'ai l'honneur de lui remettre ci-inclus le projet des Statuts du fonds, lequel a en partie été rédigé d'après les conseils de MM. les professeurs Steenstrup et Barfoed, dont je ne saurais trop apprécier l'obligeance et l'intérêt qu'ils portent à cette affaire.

Dans l'espoir que mon entreprise recevra l'approbation de l'Académie, et qu'elle prêtera à la nouvelle institution l'appui qui est indispensable à son existence et à ses progrès, je la prie de vouloir bien agréer

l'assurance de ma considération très distinguée

J. C. Jacobsen,
brasseur.

Carlsberg, le 25 Septembre 1876.

Statuts du fonds de Carlsberg.

§ I. Par acte en date de 25 Septembre 1876, j'ai donné à ce fonds un capital de 1 million de Couronnes, garanti par une hypothèque sur ma propriété de Carlsberg, comprenant les terrains inscrits sous les n°s 19 c, e, f et g et 20 c, à Valby, avec les constructions, l'inventaire et le jardin qui s'y trouvent. Ce capital donnera un intérêt de 5 p$^{0}/_{0}$ par an, mais cet intérêt ne sera payé intégralement qu'après ma mort et celle de ma femme, et aussi longtemps que l'un de nous vivra, il sera seulement servi une rente annuelle de 2 p$^{0}/_{0}$, soit en tout 20,000 Couronnes.

§ II. Le fonds de Carlsberg a pour but:

A. de continuer et d'étendre les travaux du laboratoire de chimie et de physiologie que j'ai fondé en 1875 à Carlsberg, conformément au programme de cet établissement (voir § VIII);



B. de contribuer à l'avancement des diverses sciences naturelles, des mathématiques, de la philosophie, de l'histoire et de la linguistique, ainsi qu'il est indiqué plus loin (voir § IX).

§ III. Aussi longtemps que le revenu annuel du fonds ne s'élèvera qu'à 20,000 Cour., cette somme, déduction faite des frais d'administration, devra avant tout être employée à couvrir les dépenses du laboratoire. L'excédant pourra être appliqué à B.

§ IV. Lorsqu'après ma mort et celle de ma femme la rente entière du capital deviendra disponible, le revenu du fonds, déduction faite des frais d'administration, sera réparti également entre les sections A et B (cfr. § II). Elles supporteront de même par moitié les frais d'administration.

Au cas que l'une des sections A ou B n'ait pas l'emploi de tout son revenu annuel, l'excédant sera provisoirement mis en réserve pour servir à son usage au fur et à mesure de ses besoins, ou pour être appliqué à des entreprises reconnues nécessaires qui exigeraient un assez grand capital.

Cependant, s'il devient évident que la réserve de l'une des sections A ou B restera sans emploi, elle pourra être appliquée à l'autre section, si la direction tout entière y consent.

§ V. Le fonds est administré par une direction composée de 5 membres élus par l'Académie Royale Danoise des Sciences et des Lettres, et pris dans son sein. Ils sont nommés pour 10 ans. Tous les deux ans, il y a un membre sortant, qui, dans la première période décennale, est désigné par le sort. Il peut être réélu. Si un membre meurt ou donne sa démission avant l'expiration de son mandat, son remplaçant est nommé pour le temps qu'il avait encore à rester en fonctions. La direction nomme dans son sein un président après chaque élection ordinaire d'un directeur. Elle fait elle-même son règlement.

§ VI. Trois membres de la direction sont, avec 1 ou 2 adjoints, spécialement chargés de l'inspection du laboratoire. Ces trois membres doivent être versés dans les sciences naturelles. Le ou les adjoints sont élus par l'Académie parmi des hommes qui n'en font pas partie, et qu'en raison de leur connaissance de l'art du brasseur ou pour d'autres motifs, on doit supposer être familiers avec le genre de travaux dont s'occupe le laboratoire, et y porter de l'intérêt. Ils sont nommés pour 5 ans et peuvent être réélus.

Ce comité du laboratoire fait lui-même son règlement et nomme son président, qui reste en place jusqu'à ce que son mandat comme directeur soit expiré.

§ VII. Les membres de la direction reçoivent chacun par an 400 Couronnes d'honoraires. Les trois directeurs chargés du laboratoire touchent en outre chacun un supplément de 300 Cour. A chaque poste de président est attaché un traitement de 200 Cour. Les adjoints ont chacun 300 Cour.

§ VIII. Le laboratoire de Carlsberg doit avoir pour objet de vérifier par des recherches originales les doctrines déjà établies par la

science, et de les développer par des études suivies, de manière à en former une base scientifique aussi complète que possible pour les opérations du maltage, du brassage et de la fermentation.

En ce qui concerne les aides du laboratoire, on veillera à ce qu'il puisse peu à peu se former parmi eux des spécialistes, dans les branches de la chimie et de la physiologie qui se rattachent à l'art du brasseur.

Parmi les travaux dont le laboratoire aura à s'occuper, figurent entre autres pour le moment:

a. Des recherches tant chimiques que physiologiques sur les grains qui peuvent être employés dans le brassage, spécialement l'orge et ses variétés, et sur les causes de leurs différentes propriétés, telles que le climat, le sol, le mode de culture, le degré de maturité, etc.

b. Des recherches analogues sur le houblon, sur les méthodes à employer pour en déterminer les principes actifs, sur les caractères et le mode d'action de ces substances pendant le brassage et la fermentation.

c. Une étude approfondie des substances dont se composent les grains, notamment de l'amidon et de ses dérivés, la dextrine, le sucre etc., ainsi que des matières albuminoïdes, de leur rôle et de leurs transformations pendant les opérations du brassage, par exemple:

   pendant le maltage (délayement, germination et séchage) et avec l'emploi de différentes méthodes; pendant la trempe et l'ébullition (méthodes d'infusion et de décoction, ébullition à feu direct, à la vapeur, sous pression, etc.);

   pendant le refroidissement (influence de l'air atmosphérique, systèmes divers, théories de Baudelot et de Pasteur, etc.);

   pendant la fermentation, suivant les différentes méthodes de maltage et de brassage.

d. Des recherches sur la levûre, sur son développement, sa nature et son action dans des conditions différentes et dans les diverses phases de la fermentation, ainsi que sur l'influence de l'air, de la lumière, de la chaleur et de l'électricité.

e. Des recherches sur les autres ferments qui peuvent prendre naissance pendant la fermentation, tels que les ferments lactique, acétique, butyrique etc.

f. Des recherches sur le produit final, la bière, sur ses propriétés et les conditions à remplir relativement à son goût, à sa conservation et à son amélioration, etc.

g. Des recherches sur les causes des fréquentes irrégularités qui se présentent dans les opérations du brassage, et, en général, de tous les phénomènes particuliers.

h. La vérification des observations et des découvertes faites par d'autres savants, ainsi que des hypothèses et des théories auxquelles elles servent de base.

Les résultats ainsi acquis seront publiés dans des revues danoises ou étrangères, ou d'une autre manière, en partie pour rendre compte au public des travaux du laboratoire, en partie pour constater vis-à-vis de l'étranger que le Danemark contribue pour une part honorable à l'avancement de la science dans les branches dont il est question ici. Aucun résultat ayant quelque importance théorique ou pratique ne devra être tenu secret.

Il va sans dire que les chefs du laboratoire, tout en s'occupant des travaux particuliers à cet établissement, devront, par d'autres études et d'autres recherches, s'efforcer de cultiver et de dévolopper leurs aptitudes scientifiques en général, de manière toutefois à ne pas négliger ni perdre de vue le but principal du laboratoire.

En tant que les ressources disponibles le permettront, et que le comité le jugera opportun, les chefs du laboratoire feront de temps à autre des voyage pour nouer des relations personnelles avec les savants qui, dans d'autres pays, s'occupent d'études analogues, et pour visiter les établissements correspondants de l'étranger et prendre connaissance de leurs travaux.

Le laboratoire ne doit pas faire l'office d'école de brasseur pour des élèves sans instruction scientifique préliminaire; il ne fera non plus d'analyses ni n'émettra de certificats pour des personnes étrangères à l'établissement.

§ IX. La somme destinée à l'avancement des sciences en général (conf. §§ II B, III et IV) sera principalement employée:

a. En subventions de voyage jusqu'à concurrence de 3000 Cour. en faveur de savants d'une réputation déjà bien établie, soit pour plusieurs courtes excursions à l'étranger, soit pour des voyages de plus longue durée;
b. En honoraires temporaires à de jeunes savants qui, par leurs facultés et leur vocation, sont particulièrement aptes à remplir plus tard des fonctions publiques;
c. En rétributions viagères ou à temps à des hommes distingués qui, en dehors de toute fonction publique et comme „savants libres", peuvent rendre des services à la science;
d. En subventions ou honoraires jusqu'à concurrence de 2000 Cour., pour des études ou des recherches spéciales;
e. En contributions à l'avancement de travaux scientifiques.

Les dispositions qui précèdent s'appliquent indistinctement aux personnes qui sont ou ne sont pas membres de l'Académie, de même qu'aux travaux exécutés dans le sein ou en dehors de ce corps.

§ X. La direction administre les revenus du fonds. Elle fait, sous son contrôle, tenir les livres et la caisse par un comptable salarié, dont les comptes sont revisés par 2 directeurs. Ils sont ensuite soumis à l'approbation de la direction, qui en donne quittance.

Celle-ci arrête le budget annuel, et fixe l'emploi de la somme destinée à l'avancement des sciences, conformément au § IX.

Elle adresse à l'Académie un rapport annuel sur l'emploi du fonds et les travaux du laboratoire, en l'accompagnant d'un aperçu des revenus, des dépenses et de la situation du fonds.

Elle présente à l'Académie pour les places d'adjoints au comité du laboratoire.

§ XI. Le comité du laboratoire a la haute inspection sur les travaux, les locaux, l'inventaire etc. de cet établissement.

Il nomme les chefs du laboratoire, avec faculté pour les deux parties de se dédire en se prévenant un an à l'avance.

Après s'être concerté avec les chefs du laboratoire, il engage les aides nécessaires en se réservant de les congédier après trois mois d'avis.

Il veille à ce que le plan des travaux du laboratoire, tel qu'il est fixé par les statuts, soit exactement suivi. Sans empiéter sur les droits des chefs du laboratoire comme hommes de science, il discute avec eux l'exécution des travaux qui peuvent jeter du jour sur certaines opérations spéciales du brassage, etc.

Il dresse le budget annuel du laboratoire, et veille à son maintien.

Il soumet à la direction des propositions relatives à des mesures extraordinaires en dehors du budget ordinaire, et à l'emploi de la réserve du laboratoire.

§ XII. Les chefs du laboratoire auront à se perfectionner dans les branches de la science qui ont spécialement de l'importance pour le brassage de la bière; soit par les observations et les recherches auxquelles les opérations de la brasserie donnent lieu, soit par des études et des travaux dans le laboratoire.

Ils adresseront au comité un rapport détaillé annuel sur les travaux du laboratoire, et rédigeront les articles relatifs à ceux de ces travaux qu'il jugera convenable de publier. Les frais de ces publications seront supportés par le budget du laboratoire, et le bénéfice, s'il y en a, reviendra à l'auteur.

Aussi longtemps qu'ils seront attachés au laboratoire, il leur est interdit d'être les conseillers d'autres personnes, et d'entreprendre d'autres travaux soit pour leur compte, soit pour des particuliers. Ils ne pourront non plus se charger d'un emploi public sans le consentement du comité, et si celui-ci juge qu'un pareil emploi est désirable et se concilie avec les intérêts du laboratoire, il pourra faire dépendre son consentement d'une réduction proportionnelle de leur traitement annuel.

Ils ne doivent pas se porter comme candidats aux élections du Rigsdag.

Ils engagent et congédient les employés subalternes, et veillent au bon ordre dans le laboratoire.

Ils décident de l'emploi des sommes portées au budget qui sont mises à leur disposition pour les dépenses courantes, et en rendent compte au comité.

§ XIII. Les chefs du laboratoire jouissent au minimum du même traitement que les professeurs de l'université de la même ancienneté,

mais ils n'ont pas droit à une pension de retraite. Cependant, dans des circonstances spéciales, la direction pourra, sur la proposition du comité, leur accorder un secours temporaire ou viager.

---

§ XIV. Si, dans le cours du temps, la direction juge nécessaire de modifier ces statuts, elle soumettra à l'Académie un projet relatif aux changements dont tous ses membres seront tombés d'accord, et celle-ci prendra alors une résolution à cet égard. Si l'Académie propose des amendements au projet de la direction, elle ne pourra se prononcer définitivement sur ces amendements que dans une nouvelle séance, qui aura lieu 4 semaines après que la direction l'aura informée qu'elle les a acceptés à l'unanimité.

Il ne faudra cependant jamais perdre de vue le but du laboratoire de Carlsberg (§ VIII), et cet établissement devra toujours rester attaché à la propriété de Carlsberg aussi longtemps qu'on y fabriquera de la bière. Le laboratoire ne devra jamais non plus être fusionné avec un autre établissement.

Carlsberg, le 25 Septembre 1876.

J. C. Jacobsen.

Sur le pouvoir rotatoire que le moût de bière exerce sur la lumière polarisée et sur ses variations pendant la fermentation.

Par

M. J. KJELDAHL.

Le moût de bière et la bière exercent sur la lumière polarisée un pouvoir rotatoire considérable à cause des hydrates de carbone qu'ils renferment. Ces derniers sont en partie détruits pendant la fermentation, et il en résulte une diminution du pouvoir rotatoire.

D'après les idées admises jusqu'ici, ces hydrates de carbone se composaient de glucose et de dextrine, et la fermentation éliminait presque toute la glucose ainsi qu'une partie de la dextrine. Il y avait donc de l'intérêt à rechercher jusqu'à quel point le pouvoir rotatoire, calculé d'après la quantité de glucose et de dextrine contenue dans le moût ou la bière, concordait avec le pouvoir rotatoire observé.

Les indications relatives au pouvoir rotatoire de la glucose et de la dextrine présentant de grandes différences, j'ai d'abord cherché à obtenir ces substances à l'état de pureté. La glucose pure a été préparée par la méthode de Schwartz, en faisant dissoudre du sucre de canne dans un mélange d'acide chlorhydrique et d'alcool à 80 %; la glucose cristallise au bout de peu de temps, et on la fait ensuite de nouveau cristalliser plusieurs foi dans de l'alcool et dans de l'eau. Pour préparer la dextrine pure, on a traité l'amidon à 75° par une solution aqueuse froide de malt, et, la réaction terminée, précipité la dextrine par l'alcool, puis redissous dans l'eau, précipité de nouveau par l'alcool et continué ainsi jusqu'à ce que la dextrine ne donnât plus aucune réduction avec l'acétate de cuivre contenant une petite quantité d'acide acétique libre. Cette dextrine, comme l'a montré M. Barfoed, réduit cependant toujours la liqueur de Fehling, quelque loin qu'on pousse la précipitation avec l'alcool. Le dosage de la glucose en présence de la dextrine par l'analyse volumétrique, à l'aide de la liqueur cuivrique, donne donc une quantité trop forte de glucose, et c'est ce dont je me suis assuré en examinant des mélanges déterminés à l'avance. Comme il fallait s'y attendre, l'erreur devient d'autant plus grande que l'essai se fait plus lentement, et que la dextrine est plus prédominante dans le mélange. Il est cependant à remarquer que la dextrine du moût de bière semble se comporter autrement, comme la rapidité plus ou moins grande de l'opération est sans influence sensible, et que la liqueur bleue séparée de l'oxydule de cuivre, ne donne plus de précipité, même après une ébullition prolongée.

La glucose et la dextrine ainsi obtenues ont, dans un tube de 200mm de long, donné respectivement une déviation de 4°,9 et de 16°,1 Soleil pour chaque gramme de substance sèche dans 100 cent. cubes de solution. Les observations n'ont été faites qu'avec des solutions ne dépassant pas 10 % env.

La dextrine produisant ainsi une déviation qui surpasse de plus de 3 fois celle de la glucose, on devait s'attendre que la bière, qui relativement est plus riche en dextrine, présentât une déviation beaucoup plus forte pour chaque gramme de substance sèche dissous dans 100 cent. cubes (ce que nous appellerons la déviation spécifique). Mais ce n'est pas le cas, tout aussi peu que les différentes valeurs trouvées pour les pouvoirs rotatoires de ces liquides concordent avec celles qui sont déduites des quantités observées de glucose et de dextrine. — On a confirmé par de nouvelles observations la découverte due à M. Dubrunfaut, que le sucre produit par l'action de la diastase sur l'amidon n'est pas de la glucose, mais une autre substance, la maltose. Comme on sait, le pouvoir réducteur de ce sucre pour l'oxyde de cuivre, n'est que les $^2/_3$ de celui de la glucose, tandis que son pouvoir rotatoire est deux fois plus grand que celui du sucre de canne, à savoir de 12°,4 Soleil pour 1 gr. de maltose dissous dans 100 cent. cubes, dans un tube de 200mm de long. Si, après avoir calculé ce que les analyses de la glucose et de la dextrine donnent pour la maltose et la dextrine, on déduit de ces résultats le pouvoir rotatoire. on ne trouve pas non plus un nombre qui s'accorde avec le nombre observé.

Pour apporter quelque clarté dans ces questions, j'ai exécuté une série de recherches ayant pour objet de suivre pas à pas la diminution de l'extrait et du pouvoir rotatoire pendant les différentes phases de la fermentation. L'extrait a été dosé après dessication sur du sable, et on a déterminé le pouvoir rotatoire après avoir décoloré le moût étendu d'eau avec du sous-acétate de plomb ou avec du noir animal, qui donne le même résultat.

Le tableau suivant renferme les résultats de ces recherches pour la cuve de fermentation n° 77 de la brasserie de Carlsberg.

Dates	Extrait en volumes pour cent.[1]	Déviation.	Pouvoir rotatoire spécifique.	Degrés Soleil en moins par volume p. %.
21 Avril	13,65	149	10,9	—
24 —	12,36	139	11,2	7,8
29 —	9,03	106	11,7	9,9
1 Mai	7,50	87	11,6	12,4
3 jours de cave	5,88	68	11,6	—
18 — —	5,45	61,5	11,3	—
bière en bouteilles	5,00	56	11,2	—

[1]) Par un volume pour cent, il faut entendre 1 gramme dissous dans 100 cent. cubes.

Le pouvoir rotatoire spécifique de l'extrait a donc un maximum, qui se produit après 8 jours de fermentation environ, après quoi survient une diminution lente, qui se manifeste surtout dans la cave pendant la fermentation ultérieure, jusqu'à ce que, dans la bière terminée, il soit devenu à peu près égal à celui du moût. Cette marche s'explique facilement. Le pouvoir rotatoire spécifique croît, parce que les substances exerçant la plus faible déviation sont d'abord éliminées; il décroît, parce que l'extrait devient relativement plus pauvre en substances douées de pouvoir rotatoire. Au début de la fermentation, la première cause a le dessus, et, vers la fin, c'est la seconde qui l'emporte; elles se balancent presque l'une l'autre.

Les nombres de la dernière colonne, qui donnent le pouvoir rotatoire de 1 % d'extrait fermenté, répondent assez exactement à 1 % de sucre fermenté, comme la portion éliminée se compose en majeure partie de cette substance; une petite quantité de principes du houblon et surtout de matières albuminoïdes se séparent en même temps. L'analyse suivante montre combien il se sépare de ces dernières substances pendant la fermentation d'un moût de bière d'exportation, dans la brasserie de Carlsberg.

Avant la fermentation principale: 16,5 vol. % Extrait,
contenant 4,1 % matières azotées .... = 0,68 vol. % du moût.
Après la fermentation principale: 9,3 vol. %
Extrait,
contenant 5,2 % matières azotées .... = 0,48 vol. % de la bière.

Séparé pendant la fermentation .... = 0,20 vol. %.

Ces recherches montrent surtout que ce n'est pas une seule et même espèce de sucre qui est éliminée, mais qu'il y en a plusieurs, qui, au commencement, ont un pouvoir rotatoire compris entre ceux de la glucose et de la maltose, et plus tard entre ceux de la maltose et de la dextrine; ce sont donc peut-être des mélanges de ces 3 substances, ou, ce qui semble être plus probable, une série de différents hydrates de carbone. — J'espère de pouvoir publier sur ces questions plusieurs autres observations.

Dosage de l'extrait.

Par

M. J. KJELDAHL.

Le dosage de l'extrait dans le moût et la bière se fait généralement par la méthode de Balling, au moyen d'un aréomètre qui indique les centièmes de sucre de canne, les solutions également concentrées de sucre de canne et d'extrait de malt ayant, d'après ce savant, le même poids spécifique. M. Balling a donc déterminé les poids spécifiques d'une série de solutions de sucre de canne, et publié son travail en deux tableaux, dont l'un, jusqu'à 75 %, avec un intervalle de 5 % entre les quantité de sucre, et l'autre, jusqu'à 20 %, avec un intervalle de 0,0001 entre les poids spécifiques. C'est d'après ce dernier qu'est construit le saccharomètre de Balling, en usage aujourd'hui dans toutes les brasseries, et ces tableaux servent de base à presque toutes les analyses zymotechniques.

L'application du principe de M. Balling suppose que les courbes des poids spécifiques du sucre de canne et de l'extrait de malt ont la même forme, si elles ne se confondent pas. Un moût à 12 % Blg., par exemple, étendu de 2, 3, 4 etc. fois son volume d'eau, devra marquer 6, 4, 3 etc. % Blg. Ces déterminations de poids spécifiques exigent beaucoup de soin, comme les différences dont il peut être question sont d'un ordre minime. Les mieux est d'opérer dans un pyknomètre fermé avec un thermomètre usé à l'émeri, et muni d'un tube divisé en millimètres, en ayant soin de construire un tableau qui indique le contenu en eau distillée à la température normale, pour chacune des divisions du tube. Après avoir noté le niveau du liquide dans le tube, on peut sécher l'appareil sans que rien se perde. L'appareil dont je me suis servi renfermait 50 gr. d'eau environ; la limite des erreurs de pesage était de 1,5 milligr. env., correspondant à 3 unités dans la cinquième décimale. J'ai trouvé ainsi que le poids spécifique de la solution diluée répondait à une concentration un peu plus faible que celle calculée d'après la dilution. La différence était très petite, mais elle s'est reproduite dans toutes les expériences. Voici, comme exemple, deux de ces dernières (a et b):

Moût houblonné d'un poids spécifique de 1,0516 = 12,666 % Blg.

Après la dilution, concentration calculée	a. 10,233	— b. 2,612
— - — conc. répondant au poids spéc.	- 10,226	— - 2,587
Différence . . .	0,007	— 0,025

M. Schulze a publié dernièrement dans „Der Bayrische Bierbrauer" quelques expériences de dilution (à l'occasion d'une très vive critique des méthodes en usage pour doser l'extrait de malt), qui présentent une erreur dans le même sens que les miennes, mais elle est un peu plus grande.

Comme je viens de le montrer, l'écart qu'ont donné mes expériences est insignifiant, même pour un moût très concentré; mais, comme on le verra, il s'accorde bien avec les essais de dessication mentionnés plus loin. Les extraits de bière faiblement concentrés ne présentent aucun écart sensible, mais les extraits très concentrés (18 %), provenant de l'évaporation de bière de garde, en donnent un considérable, ce qui ne peut surprendre, une pareille dissolution étant bien différente d'une simple dissolution d'hydrates de carbone. Mais, dans la pratique, on n'a pas affaire à ce genre d'extraits; dans la bière à fermentation haute, où ils peuvent bien se rencontrer, mais où ils se composent essentiellement de dextrine et de sucre, ils se comportent comme le moût de bière lorsqu'on les dilue.

En examinant de la même manière des dissolutions de sucre de canne, j'ai trouvé que la dissolution diluée présentait là aussi un poids spécifique autre que celui donné par le calcul. Il en résulte que les tableaux ne répondent pas exactement au sucre de canne pur, et cela m'a amené à en contrôler la partie comprise entre 0 et 10 %. Les expériences (au nombre de 40 env.) ont été faites avec du candi blanc, cristallisé de nouveau dans de l'alcool à 90 % et séché ensuite avec soin, et elles ont montré que les tableaux de Balling sont exacts aux limites de l'intervalle considéré (0 et 20 %), mais qu'ils indiquent d'ailleurs des quantités de sucre trop faibles, et que l'erreur croît uniformément à partir des deux points extrêmes jusque vers 8—10 %, où elle est de 0,1 %. Ce résultat s'accorde bien avec les tableaux de Balling corrigés par M. Brix.

M. Leyser a publié, en 1867, dans „Der Bayrische Bierbrauer", plusieurs dosages d'extrait de bière par dessication directe à 110° dans un courant d'air sec. Cette méthode est devenue plus tard d'un usage général, et on l'a vantée comme étant très exacte. Mais plusieurs séries d'expériences que j'ai entreprises pour en comparer les résultats à ceux de Balling, m'ont fait voir qu'on ne pouvait, par ce moyen, obtenir des poids constants, ni dans un courant d'air sec. ni, ce que j'ai essayé dans l'idée que ce défaut était peut-être dû à une oxydation lente, dans un courant d'hydrogène pur et sec. J'ai été plus heureux en opérant la dessication dans un verre, sur du sable préalablement épuisé par l'acide chlorhydrique et calciné. Bien qu'il y ait toujours aussi une perte de poids, celle-ci diminue cependant rapidement, et le poids reste généralement constant du 2e au 3e jour. Des expériences exécutées avec des dissolutions de sucre de canne, et destinées à servir de contrôle, ont également donné un résultat exact après 2 jours de dessication. En procédant de cette manière, j'ai, avec des moûts à 5—7 %, 9—12 %, 14—16 %, trouvé respectivement env. 98 %, 97 %, 96 % Balling, et avec des extraits de bière à 5 %, 97 % env., le tout après 2 jours de dessication. Je me suis servi, pour ces expériences, de moûts préparés par infusion et par décoction, houblonnés et non houblonnés, et de bières à fermentation haute et basse. L'écart que j'ai constaté est trop petit pour avoir quelque importance dans la pratique.

Comme les saccharomètres sont en général réglés sur des dissolutions de sucre de canne d'une concentration connue, et que les tableaux

de M. Balling, ainsi que nous l'avons vu, donnent à cet égard des nombres un peu trop faibles, l'erreur sera plus grande avec le saccharomètre qu'avec le pyknomètre, de sorte que le dosage direct ne donnera en général que 94—95 % de ce qu'on trouve avec le saccharomètre.

L'erreur, nous l'avons dit, est un peu plus grande avec un moût concentré qu'avec un moût faible. Cela s'accorde bien avec la circonstance, que le saccharomètre de Balling indique pour un pareil moût dilué une concentration moindre que celle qui répond à la dilution. En faisant la correction mentionnée plus haut, on obtient exactement la concentration correspondant à la dilution.

M. Lermer a publié des expériences analogues aux miennes, pour la plupart exécutées dans un courant d'air sec. Il constate également une perte de poids constante qui dure très longtemps. Il est singulier que, tout en y voyant autre chose qu'une simple perte d'eau, il tire cependant de ses expériences de dessication poursuivies pendant 30 jours, la conclusion que les tableaux de Balling indiquent une quantité d'extrait trop forte de 12 %. M. Lermer trouve aussi que l'erreur augmente avec un moût concentré.

Dosage de l'alcool dans la bière.

Par

M. J. KJELDAHL.

Le dosage de l'alcool dans la bière par la voie indirecte exige la détermination de deux poids spécifiques, à savoir celui de la bière débarrassée de son acide carbonique, et celui de la bière d'abord réduite au $^1/_3$ environ, et puis étendue d'eau jusqu'à ce qu'elle soit ramenée à son poids primitif. De ces deux poids spécifiques on déduit la quantité d'alcool; mais, pour faire le calcul, on s'est servi de plusieurs formules.

M. Balling a employé ses tableaux saccharométriques. Quant à la marche de ses calculs, nous renverrons à sa „Gährungs-Chemie“ et à d'autres traités. Pour l'intelligence de ce qui suit, nous dirons seulement que s désigne le poids spécifique de la bière; m, la quantité d'extrait correspondante, en centièmes; S, le poids spécifique de la bière réduite; n, l'extrait correspondant en centièmes, nombre qui indique en même temps la proportion en centièmes de l'extrait contenu dans la bière. Nous rappellerons en outre que le degré de fermentation vrai, F, exprime combien il a été éliminé de centièmes de l'extrait que la bière contenait primitivement, et le degré de fermentation apparent, F', combien il semble en avoir été éliminé.

M. Reischauer considère la bière comme une dissolution d'extrait dans de l'alcool étendu d'eau, dont il faut chercher le poids spécifique Σ. Il ne prend pas les tableaux de Balling pour base de ses

formules, dont on trouvera le développement dans „Der Bayrische Bierbrauer“ pour 1876. Ces formules sont:

$$\Sigma = \frac{s}{S} \qquad A = \frac{P_\Sigma}{S}$$

où s et S désignent, comme auparavant, les poids spécifiques respectifs de la bière et de la bière réduite par l'ébullition; Σ, le poids spécifique de l'alcool dilué; P_Σ, la proportion en centièmes d'alcool correspondant à ce poids spécifique, dans les tableaux, et A, la proportion en centièmes d'alcool dans la bière. Les tableaux employés ici sont ceux de Fownes, qui sont calculés pour la température de 17°,5 C. dans l'„Attenuationslehre“ de Holzner, p. XXXIX. Dans ces tableaux, comme dans ceux de Brix, pour 15°,5, et ceux de Stampfer, pour 15°, le poids spécifique de l'eau = 1 correspond à la température normale, et, dans les tableaux de Gilpin et de Tralles, à 4°.

Les formules de M. Korschelt, qu'on trouvera développées dans „Der Bayrische Bierbrauer“ pour 1876, sont les suivantes:

$$\Sigma = \frac{1 - \frac{n}{100}}{\left(\frac{1}{s} - \frac{1}{S}\right) + \left(1 - \frac{n}{100}\right)}, \quad A = P_\Sigma \left(1 - \frac{n}{100}\right)$$

où les lettres ont la même signification que plus haut.

M. Holzner fait observer que la différence entre les formules de Reischauer et de Korschelt, est due à ce que celui-ci suppose que la dissolution de l'extrait de bière dans l'eau et l'alcool ne donne lieu à aucune contraction, tandis que, suivant le premier, cette contraction est si grande que le volume des liquides, après la dissolution, demeure invariable. La supposition de M. Korschelt me paraît plus vraisemblable, comme la dissolution du sucre de canne, lequel, sous ce rapport, présente une grande ressemblance avec l'extrait de bière, ne produit aucune contraction sensible. Cette question n'a pas été éclaircie par des expériences directes.

Les principes qui servent de base aux formules précédentes sont en partie inexacts, ou n'ont du moins pas reçu une confirmation suffisante. Aussi est-il nécessaire, pour pouvoir faire un choix entre elles, d'entreprendre un grand nombre d'analyses, tant indirectes que directes par distillation. On trouvera plus loin un travail de ce genre, qui comprend des bières de composition très différente. J'ai opéré sur environ 100 gr. de bière, qui, après avoir été neutralisés avec de l'eau de chaux, ont été distillés dans une cornue à col ascendant placée dans un petit bain d'huile, et les $^2/_3$ env. en ont été recueillis dans un récipient taré, qui, pendant la distillation, était entouré de glace. Caractéristique était l'odeur désagréable de l'alcool distillé, ainsi que la différence que les diverses espèces de bières présentent sous ce rapport. Chaque détermination est la moyenne de deux distillations, dont les résultats sont très concordants. Les poids spécifiques du produit distillé et ceux qu'on a eu à prendre dans l'analyse indirecte ont été déterminés avec le pyknomètre. Les tableaux suivants renferment aussi les résultats des analyses saccharométriques d'après la méthode de calcul de M. Balling.

Nº	Espèces de bières.	Alcool.								Analyse saccharométrique.							
		s.	S.	Par distillation.	D'après					m.	n.	Alcool.	Extrait.	Eau.	Concentration du moût.	Degré de fermentation vrai.	Degré de fermentation apparen.
					Korschelt.	Rei-schauer.	Balling.	Otto.	Zenneck.								
				%	%	%	%	%	%			%	%	%	%		
1	Bière de garde de Carlsberg.	1,0130	1,0203	4,00	3,97	3,93	4,06	4,04	4,12	3,250	5,075	4,06	5,08	90,86	12,91	61	75
2	Même espèce de bière.	1,0115	1,0190	4,06	4,09	4,08	4,17	4.16	4.25	2,875	4,750	4,17	4,75	91,08	12,80	63	77,5
3	Carlsberg Beer.	1,0161	1,0251	5,01	4,96	4,94	5,00	5,06	5,20	4,025	6,268	5,00	6,27	88,72	15,78	60	74,5
4	Même espèce de bière.	1,0159	1,0249	5,00	4,95	4,93	5,01	5,05	5,20	3,975	6,219	5,01	6,22	88,77	15,74	60,5	75
5	Double Brown Stout de Carlsberg.	1,0277	1,0357	4.29	4.26	4,24	4,35	4,39	4,57	6,901	8,853	4,35	8,85	86,80	17,05	48	60
6	Bière de Tuborg.	1,0177	1,0260	4,47	4,52	4,51	4,59	4,62	4,75	4,425	6,488	4,59	6.49	88,82	15.23	57,5	72
7	Bière de garde de Tuborg.	1,0158	1,0233	4,09	4,07	4,06	4.17	4,15	4,25	3,950	5,825	4,17	5,83	90,00	13,84	58	72
8	Bière de garde d'Albani.	1,0212	1,0281	3,73	3.66	3,68	3,78	3,77	3.89	5,300	7,000	3.78	7,00	89.22	14,24	51	63
9	Bière de garde de Svanholm.	1,0148	1,0226	4,23	4,25	4,23	4,35	4.32	4.44	3,700	5,650	4,35	5,65	90,00	13.98	59,5	73,5
10	Bière de Thuringe.	1,0162	1,0242	4,41	4.35	4.34	4,49	4.44	4.57	4,050	6,048	4.49	6,05	89.46	14.55	58	72
11	Pale Ale, Bass & Co.	1,0211	1.0336	7,19	7,02	6,97	6,88	7.20	7,48	5,275	8,341	6,88	8,34	84.78	21,01	60	75
12	Bock Ale, Strasbourg.	1,0145	1,0237	5.05	5,08	5,07	5,13	5.19	5,32	3,625	5,925	5,13	5,93	88,94	15,68	62	77

Nº	Espèces de bières.	Alcool.								Analyse saccharométrique.							
		s.	S.	Par distillation.	D'après Korschelt	D'après Reischauer.	D'après Balling.	D'après Otto.	D'après Zenneck.	m.	n.	Alcool.	Extrait.	Eau.	Concentration du moût.	Degré de fermentation vrai.	Degré de fermentation apparent.
				%	%	%	%	%	%			%	%	%	%		
13	Extra Stout, Bass & Co.	1,0241	1,0374	7,57	7,47	7,43	7,28	7,70	8,03	6,024	9,268	7,28	9,27	83,45	22,59	59	73
14	Imperial Stout, Bass & Co.	1,0052	1,0173	7,07	6,98	6,95	6,73	7,06	7,21	1,300	4,325	6,73	4,33	88,94	17,02	75	92,5
15	Bière double douce, de la brasserie A.	1,0627	1,0665	1,84	1,84	1,82	1,98	1,94	2,08	15,302	16,186	1,98	16,19	81,83	19,87	18,5	23
16	Bière amère, de la même brasserie.	1,0375	1,0407	1,59	1,60	1,60	1,73	1,66	1,73	9,292	10,071	1,73	10,07	88,20	13,40	25	30,5
17	Bière ordinaire* prima, de la même brasserie.	1,0382	1,0397	0,68	0,75	0,74	0,81	0,77	0,81	9,463	9,828	0,81	9,83	89,36	11,41	14	17
18	Bière ordinaire no 1, de la même brasserie.	1,0304	1,0321	0,82	0,87	0,87	0,92	0,89	0,92	7,560	7,975	0,92	7,98	91,10	9,78	18	23
19	Bière ordinaire no 2, de la même brasserie.	1,0237	1,0251	0,79	0,72	0,71	0,76	0,73	0,75	5,925	6,268	0,76	6,27	92,97	7,77	19	23,5
20	Bière pour les navires, de la même brasserie.	1,0140	1,0154	0,67	0,73	0,73	0,77	0,74	0,75	3,500	3,850	0,77	3,85	95,38	5,43	28,5	36
21	Bière double douce, de la brasserie B.	1,0622	1,0652	1,45	1,43	1,43	1,57	1,52	1,62	15,186	15,883	1,57	15,88	82,55	18,80	15,5	19
22	Extrait de malt, de la même brasserie.	1,0618	1,0660	2,02	2,04	2,04	2,20	2,17	2,31	15,093	16,070	2,20	16,07	81,73	20,14	20	25
23	Bière ordinaire prima, de la même brasserie.	1,0370	1,0390	1,06	1,00	0,99	1,08	1,03	1,08	9,170	9,657	1,08	9,66	89,26	11,76	18	22
24	Extrait de malt, de Hoff.	1,0278	1,0347	3,75	3,63	3,62	3,76	3,75	3,89	6,925	8,609	3,76	8,61	87,63	15,75	45	56

* C'est-à-dire bière à fermentation haute.

On voit par ces tableaux: que les formules de Reischauer et surtout de Korschelt s'accordent en général très bien avec les résultats donnés par la distillation (sauf pour les Nos 11, 13, 14, 24); que la méthode de M. Balling donne généralement des nombres trop forts (sauf pour les Nos 11, 13, 24); que les formules d'Otto et de Zenneck sont dans le même cas; que les exceptions se rapportent à des bières d'une nature peu ordinaire. La formule de Reischauer, qui n'exige que peu de calculs, est celle qui convient le mieux dans la pratique.

Les différences entre mes résultats et ceux que donnent les formules de Korschelt et de Reischauer, sont, entre autres causes, dues à la circonstance que, pendant la réduction de la bière au $^1/_3$, il se sépare un petit précipité qu'on filtre, et dont il n'est pas tenu compte dans le développement des formules. Mais une détermination de cette portion de l'extrait rendrait l'analyse indirecte trop compliquée.

I.

Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la levûre basse du Saccharomyces cerevisiae.

Par

M. Rasmus Pedersen.

I. Influence de la température sur la propagation des cellules de levûre basse.

1. Méthode de recherche.

A. Dosage de la levûre.

Dans la question qui nous occupe, il s'agit de doser la levûre pendant les différentes périodes de la fermentation. Ce dosage peut s'effectuer de plusieurs manières.

1. Méthode de pesage.

J'avais d'abord pensé à employer cette méthode; mais, après mûre réflexion, j'ai dû l'abandonner comme étant trop peu exacte. Dans les expériences que j'ai faites sur l'influence de l'air sur la fermentation, j'ai, en dosant la levûre par ce moyen, reconnu comme beaucoup d'autres les difficultés et les défauts d'une méthode qui, dans le temps, a conduit M. Pasteur à admettre que la quantité de levûre augmenté pendant la fermentation, tandis qu'elle a amené Liebig à la conclusion contraire. Je signalerai ici quelques-uns de ses défauts. Pour séparer la levûre de la liqueur en fermentation, il faut recourir à la filtration. Mais celle-ci est longue et difficile, même si elle se fait par aspiration, et elle l'est surtout au début de la fermentation, ce qui est particulièrement fâcheux pour les recherches dont il s'agit, puisque, pour déterminer la vitesse de formation de la levûre, il faut interrompre de bonne heure la fermentation. La lenteur de la filtration — l'écoulement de 1 litre à travers le filtre peut bien prendre une dixaine d'heures — entraîne l'inconvénient que les cellules de levûre peuvent continuer à se multiplier pendant cette opération, de sorte que la quantité de levûre qu'on recueille sur le filtre n'est pas celle qui s'était formée lorsque l'expérience a été interrompue, ni, par conséquent, celle qu'on désirait déterminer. On peut cependant y remédier d'une manière efficace en opérant la filtration à une température suffisamment basse,

dans une armoire refroidie avec de la glace. — Un autre inconvénient de la méthode de pesage, c'est qu'on ne peut obtenir le poids des cellules de levûre seules. Si la liqueur en fermentation, outre les cellules, renferme d'autres éléments insolubles, ceux-ci peuvent rester sur le filtre avec la levûre. Mais ne fût-ce même pas le cas, on obtient toujours un poids trop fort, car une partie de la liqueur reste adhérente au filtre et aux cellules de levûre, et si l'on voulait essayer de s'en débarrasser par un lavage à l'eau distillée, on dissoudrait en partie les éléments solubles de la levûre, et on introduirait ainsi une nouvelle cause d'erreur.

Mais, même en faisant abstraction de ces inconvénients, on ne saurait pourtant employer la méthode de pesage dans des recherches scientifiques sur la multiplication des cellules de levûre, parce qu'on a seulement pour but de déterminer le nombre de ces cellules. Or, le poids de la levûre dépend non-seulement du nombre des cellules de levûre, mais aussi du poids de chaque cellule prise isolément. Un poids plus grand de levûre peut donc tout aussi bien résulter de l'augmentation de poids des cellules que de l'accroissement de leur nombre. C'est seulement dans le cas où le poids de la cellule de levûre serait une grandeur constante, qu'on pourrait considérer le poids de la levûre comme l'expression du nombre des cellules; mais rien ne justifie une pareille hypothèse.

2. Observation d'une cellule de levûre isolée.

En examinant les méthodes dont on peut faire usage pour déterminer la multiplication de la levûre, on pense naturellement tout de suite à celle qui a été employée de préférence dans les derniers temps pour résoudre une quantité de questions mycologiques, à savoir l'observation d'une cellule isolée. Cette méthode ne saurait cependant servir à la détermination de la quantité de levûre qui se forme dans tout le cours d'une fermentation, mais elle peut certainement trouver une application dans la question de la vitesse de propagation des cellules de levûre. Dans les essais préliminaires que j'ai faits avec cette méthode, en me servant soit des chambres de Geisler, soit de celles de Ranvier, ou, plus simplement, en entourant d'un anneau d'huile le liquide nourricier sur une lame de verre porte-objet, et en recouvrant le tout d'un lamelle couvre-objet, j'ai constaté que les cellules de levûre présentent individuellement une très grande différence, relativement au temps nécessaire à la formation d'une nouvelle génération, de sorte que, pour obtenir une moyenne exacte, il faut observer un grand nombre de cellules l'une après l'autre, ce qui rend l'emploi de la méthode très incommode pour ce but. Elle est au contraire excellente pour s'assurer si, dans certaines circonstances, les cellules de levûre se multiplient ou non.

3. Méthode de numération.

Ayant eu l'occasion d'entretenir M. le professeur Panum des défectuosités des deux méthodes précédentes, ce savant appela mon

attention sur la méthode de numération de Malassez, modifiée par Hayem, qui est employée dans la physiologie animale pour compter les globules du sang contenus dans un volume donné de ce liquide, et il émit l'opinion qu'elle se prêterait encore mieux à la numération des cellules de levûre. Avec l'extrême obligeance qui le caractérise, M. Panum mit à ma disposition l'hématomètre de Hayem-Nachet et la description qui l'accompagne. Les essais que j'ai faits avec cet appareil m'ont prouvé que la méthode est excellente, et c'est aussi celle que j'ai employée dans mes recherches. J'en donnerai maintenant une description, telle que je l'ai modifiée pour l'adapter aux recherches sur la levûre.

La méthode consiste à compter le nombre des cellules de levûre contenues dans un volume donné d'un liquide, lorsqu'elles y sont uniformément réparties.

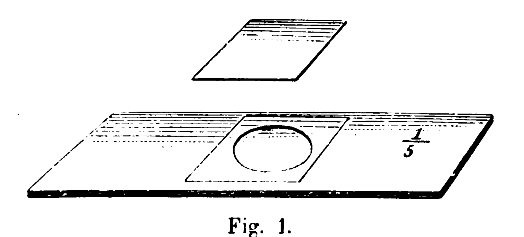


Fig. 1.

L'appareil employé (Fig. 1) se compose d'une lame de verre porte-objet (a), sur laquelle est collée une lamelle de verre (b), épaisse de $1/5$ de millimètre et perforée à son centre d'un trou rond dessiné dans la figure. En déposant au centre de la chambre ainsi formée une petite goutte du liquide à examiner, et en la recouvrant d'une lamelle couvre-objet épaisse et parfaitement plane, on obtient une couche de liquide dont l'épaisseur est de $1/5$ de millimètre. Dans l'oculaire du microscope est disposé un micromètre divisé en carrés égaux [1]), dont la projection divise la couche de liquide de la chambre en petits prismes quadrangulaires de $1/5$ de mm. de hauteur, et ayant chacun pour base la projection d'un des carrés du micromètre. J'appellerai un pareil prisme *une unité de volume*, et c'est le nombre moyen des cellules de levûre qui y sont contenues qu'il s'agit de déterminer. Si ces cellules (comme c'est ordinairement le cas) ont un poids spécifique plus grand que le liquide qui les renferme, elles tombent, au bout de quelques minutes, au fond de la chambre, et le nombre de cellules qu'on aperçoit alors dans chacun des carrés du champ de vision, est celui qui se trouvait dans l'unité de volume correspondant à ce carré. Lorsque, dans toutes les recherches, on emploie la même unité de volume, peu importe quelle en est la grandeur absolue; l'unité dont je me suis servi était $1/2000$ de millim. cube.

---

[1]) On trouve ces micromètres quadrillés et ces lames porte-objet, avec chambre de $1/10$ ou $1/5$ de millim. de profondeur, mentionnés sous les No. 45 et 46 dans le prix courant de Zeiss pour 1877.

J'ai toujours travaillé avec l'objectif VII de Hartnack, l'oculaire III à tube rentré.

Manière de procéder. On agite d'abord très fortement le liquide pour que les cellules de levûre s'y répartissent également, et, à l'aide d'un tube capillaire, on en dépose une petite goutte au centre de la chambre, en ayant soin de ne pas la prendre assez volumineuse pour qu'elle en remplisse la cavité tout entière, ni avant d'avoir été recouverte par la lame de verre, ni après. On laisse ensuite la préparation reposer quelques minutes sur la platine du microscope, jusqu'à ce que les cellules de levûre soient tombées au fond de la chambre, et on procède alors à la numération des cellules qui se trouvent dans chacun des carrés du champ de vision, après avoir, au préalable, tourné l'oculaire de façon que les lignes, dans le champ de vision, aient seulement les directions Nord-Sud et Est-Ouest (ces expressions, appliquées ici pour déterminer la situation des objets dans le champ de vision, sont prises dans le sens où on les emploie pour les cartes géographiques). Il arrive toujours qu'un certain nombre de cellules n'occupent pas l'intérieur des carrés, mais sont à cheval sur les lignes qui limitent ces derniers, de sorte qu'elles peuvent être considérées comme appartenant à l'un ou à l'autre de deux carrés contigus. Peu importent à cet égard les règles que l'on suit, pourvu seulement qu'on soit conséquent. J'attribue toujours une cellule placée sur une ligne Nord-Sud au carré Ouest, et une cellule placée sur une ligne Est-Ouest au carré Sud. Si le nombre des cellules, dans chaque carré, est trop grand pour qu'on puisse les compter exactement, il faut diluer le liquide, mais pas plus qu'il n'est nécessaire. Il va sans dire qu'on doit déterminer avec soin le degré de la dilution, et en tenir compte lorsque, du nombre de cellules trouvé dans l'unité de volume du liquide dilué, on déduit celui des cellules de l'unité de volume du liquide non dilué. Comme, pour faire ce calcul, on multiplie le nombre trouvé par le degré de la dilution, et qu'une erreur éventuelle dans le résultat de la numération est par suite aussi multipliée, il est évident que la dilution doit être limitée au strict nécessaire. Si l'on a à sa disposition une chambre plus petite, qui permette, par exemple, d'opérer sur une couche de liquide de $^1/_{10}$ de millim. de hauteur, la dilution peut être réduite à la moitié de celle qui est nécessaire pour une couche de liquide de $^1/_5$ de millim. La dilution se fait comme il suit: après avoir fortement agité la liqueur à examiner, et en avoir, à l'aide d'une pipette, introduit 1 centimètre cube dans un petit flacon, on y ajoute, également avec une pipette, un nombre déterminé de centimètres cubes du liquide qui sert à la dilution, lequel peut être de l'eau ou du moût. Il arrive quelquefois que les cellules de levûre forment de petits tas qu'il est impossible de désagréger en agitant le liquide; il faut alors diluer avec de l'eau ou mieux avec une solution de soude étendue.

Limites des erreurs de la méthode de numération. Dans combien de petits prismes ou d'unités de volume faut-il compter les cellules pour obtenir une moyenne exacte, c'est là une question qui doit être résolue d'après les mêmes règles qu'on suit dans d'autres méthodes statistiques, pour déduire d'une série de nombres ob-

servés une moyenne vraie. Les nombres dont je me suis servi pour calculer mes moyennes, proviennent toujours de plusieurs préparations et de différents points vers le milieu de la même préparation. La numération a été continuée jusqu'à ce que la moyenne n'ait plus été sensiblement affectée par l'introduction de nouveaux nombres. Lorsque les moyennes successives ne diffèrent que par la partie décimale, il est inutile, pour l'objet qui nous occupe, d'observer encore d'autres nombres, et on obtient ce résultat avec moins de 50 nombres. Dans mes recherches, les moyennes sont déduites de 50 ou de 100 nombres, et, pour chacune de mes expériences, j'ai calculé et indiqué les moyennes successives de 10 en 10 nombres. Pour montrer l'exactitude de la méthode, je donnerai ici la série des moyennes successives déduites, dans une de mes expériences, de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 nombres, et les quantités dont elles diffèrent de la moyenne générale.

Moyennes successives.	Écarts de la moyenne générale.
66: 10 = 6,60	0,18
140: 20 = 7,00	0,58
190: 30 = 6,33	0,09
270: 40 = 6,75	0,33
329: 50 = 6,58	0,16
392: 60 = 6,53	0,11
435: 70 = 6,21	0,21
513: 80 = 6,41	0,01
583: 90 = 6,47	0,05
642: 100 = 6,42	0,00

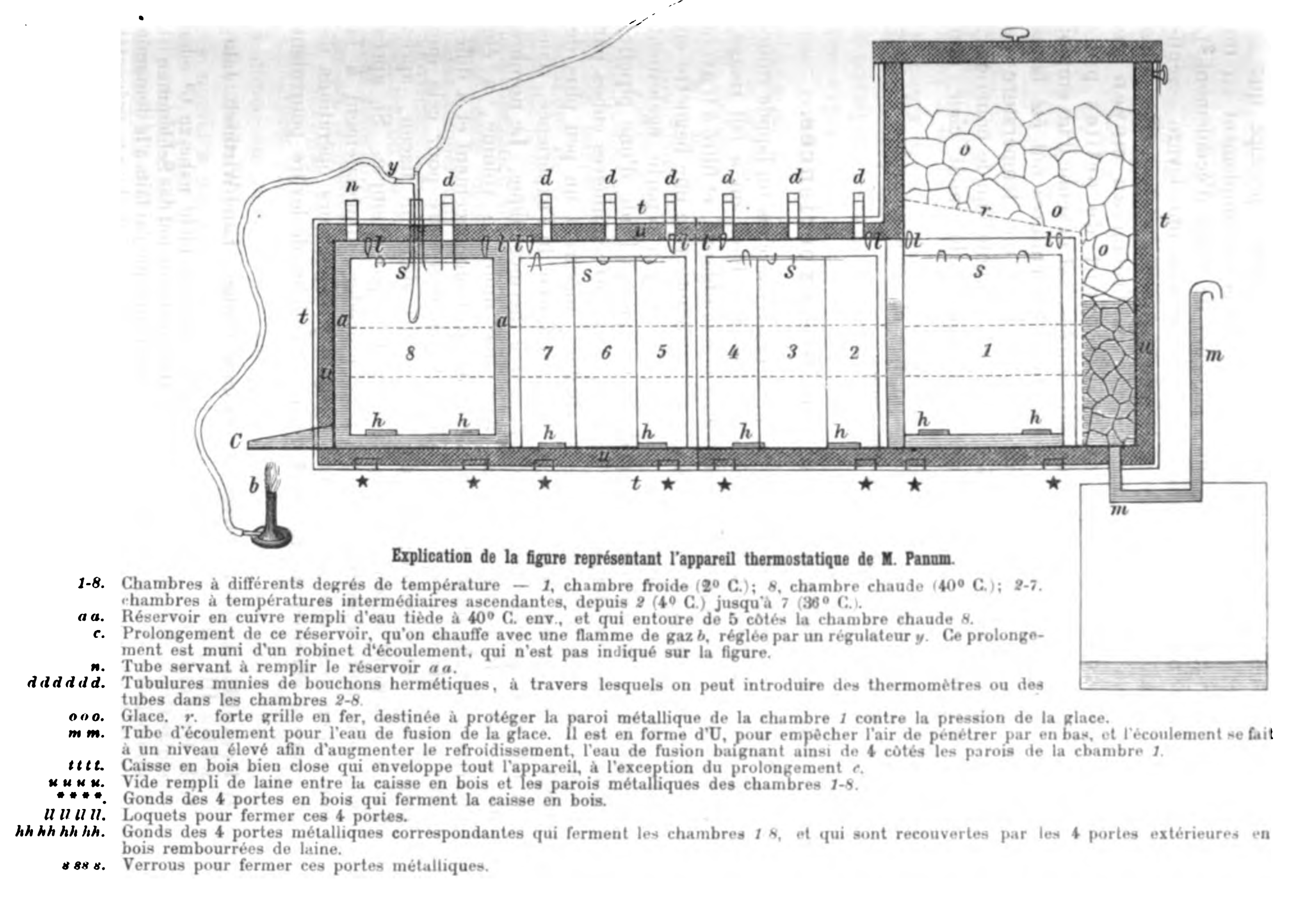
B. Production d'une température constante.

Pour étudier l'influence de la chaleur sur la multiplication des cellules de levûre, il faut avoir à sa disposition des chambres maintenues à différentes températures constantes, et, pour produire ces températures, des appareils thermostatiques sont indispensables. De tous les appareils de ce genre que je connais, le meilleur est celui qui a été construit par M. le professeur Panum, et c'est celui dont je me suis servi dans mes recherches. Cet appareil renferme une série de chambres fermées, chacune avec sa température presque parfaitement constante, et déterminée par un thermomètre. L'appareil était placé dans une pièce donnant au Nord et à l'Est, et dont les fenêtres peuvent être munies de volets en bois mobiles, qui empêchent le soleil d'y pénétrer. Le liquide en fermentation est introduit dans la chambre qui a la température voulue.

C. Purification de la levûre servant aux expériences.

J'ai employé de la levûre aussi pure et à cellules aussi égales que possible. Les expériences ont été faites avec la levûre basse du Saccharomyces cerevisiae.

La levûre basse provenant de la brasserie n'a pas été utilisée telle quelle, mais elle a d'abord été purifiée au moyen du procédé de



Explication de la figure représentant l'appareil thermostatique de M. Panum.

1-8. Chambres à différents degrés de température — *1*, chambre froide (2° C.); *8*, chambre chaude (40° C.); *2-7*. chambres à températures intermédiaires ascendantes, depuis *2* (4° C.) jusqu'à *7* (36° C.).

a a. Réservoir en cuivre rempli d'eau tiède à 40° C. env., et qui entoure de 5 côtés la chambre chaude *8*.

c. Prolongement de ce réservoir, qu'on chauffe avec une flamme de gaz *b*, réglée par un régulateur *y*. Ce prolongement est muni d'un robinet d'écoulement, qui n'est pas indiqué sur la figure.

n. Tube servant à remplir le réservoir *a a*.

d d d d d d. Tubulures munies de bouchons hermétiques, à travers lesquels on peut introduire des thermomètres ou des tubes dans les chambres *2-8*.

o o o. Glace. *r*. forte grille en fer, destinée à protéger la paroi métallique de la chambre *1* contre la pression de la glace.

m m. Tube d'écoulement pour l'eau de fusion de la glace. Il est en forme d'U, pour empêcher l'air de pénétrer par en bas, et l'écoulement se fait à un niveau élevé afin d'augmenter le refroidissement, l'eau de fusion baignant ainsi de 4 côtés les parois de la chambre *1*.

t t t t. Caisse en bois bien close qui enveloppe tout l'appareil, à l'exception du prolongement *c*.

u u u u. Vide rempli de laine entre la caisse en bois et les parois métalliques des chambres *1-8*.

*** * * *.** Gonds des 4 portes en bois qui ferment la caisse en bois.

ll ll ll ll. Loquets pour fermer ces 4 portes.

hh hh hh hh. Gonds des 4 portes métalliques correspondantes qui ferment les chambres *1 8*, et qui sont recouvertes par les 4 portes extérieures en bois rembourrées de laine.

s ss s. Verrous pour fermer ces portes métalliques.

lavage recommandé par M. Brefeldt[1]), et, déjà plusieurs années auparavant, employé avec succès dans la brasserie de Carlsberg. J'ai fait usage d'un petit appareil construit sur le même principe que le cylindre servant au lavage des terres, et consistant simplement en un verre cylindrique muni à différentes hauteurs de tubes d'écoulement [2]).

Après avoir, par des lavages répétés, obtenu une levûre essentiellement formée de cellules ayant la même grosseur et le même poids spécifique, on lui fait subir une nouvelle purification au moyen de cultures successives, en en ensemençant de petites portions, méthode qui, dans ces dernières années, est devenue d'un emploi général en mycologie pour la culture pure. Les cultures ont été faites dans la chambre froide du thermostat, qui avait une température de 4^0 C., pour se mettre à l'abri des bactéries. Comme liquide nourricier, on a employé pour ces cultures préliminaires du moût clair non houblonné.

C'est seulement la levûre ainsi purifiée et reconnue saine et pure au microscope, qui a servi aux expériences.

2. Marche et résultats des expériences.

Comme il importait de prendre pour ces recherches un liquide nourricier où les cellules de levûre se développassent bien, on a fait usage, comme pour les cultures, d'un moût clair non houblonné, et filtré à travers un filtre de papier. Dans le moût a été introduit, avec une baguette en verre, un peu de levûre basse purifiée, qu'on y a répartie également en agitant et en secouant le liquide, après quoi, à l'aide d'une pipette, on en a, aussi rapidement que possible, versé 50 centimètres cubes par flacon dans une série de flacons semblables, mesurant un peu plus de $100^{c.c.}$, qui ont été déposés, pour toute la durée du l'expérience, dans les différents petites chambres de l'appareil thermostatique. Le nombre des cellules de levûre contenues dans une unité de volume, a été déterminé par la méthode de numération, au commencement et à différents moments de l'expérience. Il n'est pas nécessaire pour cela que celle-ci soit interrompue; il suffit de prendre dans un flacon, après l'avoir fortement secoué, une épreuve de $1^{c.c.}$, par exemple. Si, après avoir pris cette épreuve, on ne peut procéder immédiatement à la numération (cas qui se présente lorsqu'il y a plusieurs opérations de ce genre à effectuer au même temps), les cellules de levûre pourraient

---

[1]) Brefeldt: Untersuchungen üb. Alkoholgährung. Land-Wirthsch. Jahrbücher III, p. 42—43

[2]) M. Brefeldt: (l. c. p. 43) dit: „Wenn das Wasser nicht nahe zu 0° oder einige Grade über 0° hat, setzt sich die Hefe nicht ab und das Schlemmen ist unmöglich." Dans les nombreux lavages de levûre que j'ai faits à la demande de M. Jacobsen, je n'ai cependant pas remarqué que le lavage présentât quelque difficulté, bien qu'il se fît à la température ordinaire des appartements. Il est possible que la levûre basse de Carlsberg, grâce au lavage auquel elle a été soumise pendant plusieurs années, soit devenue plus facile à laver, et qu'il se soit produit par sélection une forme de levûre d'un poids spécifique plus considérable qu'à l'ordinaire, de sorte que le but que M. Brefeldt espérait précisément atteindre par le lavage, à savoir la production d'une forme de levûre plus lourde et plus grande, a peut être déjà été atteint à Carlsberg.

continuer à s'y multiplier pendant l'intervalle qui s'écoule jusqu'au moment de la numération. Pour prévenir cet inconvénient, on détruit la propagation des cellules au moment de la prise de l'épreuve, en ajoutant à celle-ci quelques gouttes d'une solution de soude concentrée; mais il faut alors l'étendre d'eau avant de procéder à la numération, afin que les cellules de levûre puissent se précipiter. Le rapport entre les volumes de l'épreuve, de la solution de soude et de l'eau doit naturellement être connu.

Première série d'expériences. Propagation des cellules de levûre dans les premières 24 heures, aux températures de 4°, 13°,5 et 23° C. (Expériences No. 1—3).

Je me suis proposé, dans cette série d'expériences, de déterminer la vitesse avec laquelle les cellules de levûre se propagent à différentes températures constantes. Comme la composition du liquide nourricier a de l'influence sur cette propagation, et qu'elle varie pendant le cours de la fermentation, parce que plusieurs de ses éléments sont consumés et transformés en produits de la fermentation, qui tendent à paralyser la propagation des cellules de levûre, il est essentiel que ces expériences ne durent pas trop longtemps. Si cette condition n'est pas remplie, le liquide nourricier subit dans sa composition des changements si grands (surtout lorsque la température est élevée), qu'on ne sait plus ce qu'il faut attribuer à cette dernière et ce qu'il faut mettre sur le compte du liquide nourricier. Plus l'expérience est courte, moins sont grandes les variations du liquide nourricier, et d'autant plus nette est l'action exercée par la température, mais d'autant moins marquée est alors la différence dans l'accroissement du nombre des cellules de levûre. J'ai trouvé qu'un jour (24 heures) est un temps très convenable pour la durée d'une expérience. Les variations du liquide nourricier, dans cet intervalle, ne sont pas assez grandes pour qu'il y ait lieu de supposer qu'elles influent beaucoup sur la propagation des cellules, et, d'un autre côté, les variations que présente cette dernière se manifestent assez nettement, même à une basse température. Pour les températures plus élevées, où le liquide nourricier s'altère si rapidement, il serait peut-être préférable de prendre un intervalle de temps plus court que 24 heures, mais il est assez difficile de comparer les différentes expériences, lorsqu'elles n'ont pas eu la même durée.

Résultats des expériences.

Après avoir semé une quantité de levûre qui, au commencement, a donné en moyenne 6,4 cellules (n^0) dans chaque unité de volume, j'ai, au bout de 24 heures, compté en moyenne, par unité de volume, les nombres suivants (n').

14,4	cellules à la température de	4°	C.	(Exp. No. 1),
30,5	— - - —	- 13°,5	-	(Exp. No. 2),
77,2	— - - —	- 23°	-	(Exp. No. 3).

L'accroissement du nombre des cellules de levûre par unité de volume ($n'—n^0$) est, par conséquent, de

8	cellules à	4°	C.
24,1	—	- 13°,5	-
70,8	—	- 23°	-



et la multiplication des cellules de levûre, ou le rapport $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ du nombre de cellules compté après 24 heures à celui qui a été semé, de

2,3 à 4° C.
5,0 - 13°,5 -
12,8 - 23° -

Les résultats qui précèdent permettent de calculer le nombre des générations de cellules qui se sont formées dans les premières 24 heures[1]). On trouve ainsi qu'il s'est formé

1,2 génération à 4° C.
2,3 — - 13°,5 -
3,7 — - 23° -

d'où l'on peut déduire le temps qu'a exigé la formation d'une nouvelle génération de cellules.

Le temps qui, dans les premières 24 heures, s'écoule entre la naissance d'une cellule de levûre et le moment où elle produit elle-même une nouvelle cellule, est de

20 heures à 4° C.
10,5 — - 13°,5 -
6,5 — - 23° -

Deuxième série d'expériences. Propagation des cellules de levûre dans les premières 24 heures aux températures de 23°, 28°, 34° et 38° C. (Exp. No. 4—7).

Dans cette deuxième série d'expériences, il s'agissait de rechercher si la vitesse de propagation des cellules continue d'augmenter avec la température, ou s'il existe un optimum de température où cette vitesse atteint sa dernière limite, et un maximum, où les cellules cessent de se multiplier. J'ai suivi, pour ces expériences, la même marche que dans la première série, mais la quantité de levûre semée était si petite qu'il y avait en moyenne moins d'une cellule par unité de volume, de sorte que le nombre des cellules formées au bout de 24 heures doit être plus petit que dans la première série.

---

[1]) Si l'on part d'une seule cellule, et suppose que toutes les cellules ont la même faculté germinative à quelque génération qu'elles appartiennent, le nombre des cellules, après la première division, sera de $2 = 2^1$, après la deuxième, de $4 = 2^2$, après la troisième, de $8 = 2^3$, et en général, après g divisions, de 2^g. Mais, si, au lieu d'avoir primitivement 1 cellule, on a n^0, chaque division donnera n^0 fois plus de cellules qu'il n'y en avait d'abord, et, après g divisions, on en aura $n^0 \times 2^g$. Par conséquent, si chaque unité de volume renferme au commencement n^0 cellules, et, au bout de 24 heures, n' cellules, le nombre des générations qui se sont formées pendant ce temps, sera donné par l'équation $n^0 \times 2^g = n'$

$$\text{d'où } g = \frac{\log. \left(\frac{n'}{n^0}\right)}{\log 2.}$$

Le nombre des générations de cellules qui se sont formées dans les premières 24 heures, est égal au logarithme du nombre qui exprime la multiplication des cellules, divisé par le logarithme de 2.

Résultats.

Après un intervalle de 24 heures, j'ai compté dans une unité de volume

8	(exactement 7,96)	cellules	à 23° C.	(Exp. No. 4)
11	(— 11,07)	—	- 28° -	(Exp. No. 5)
4	(— 3,95)	—	- 34° -	(Exp. No. 6)
aucune propagation de cellules			- 38° -	(Exp. No. 7).

Avant de pouvoir comparer ces deux séries d'expériences, il est nécessaire de calculer les nombres qu'on aurait obtenus en semant la même quantité de levûre dans les deux séries, et comme cette quantité n'est pas connue pour la deuxième, il faut aussi la calculer, ce qui est facile, puisque, dans chacune d'elles, une des expériences a été faite à la même température (23° C.). On trouve ainsi que, dans la deuxième série, il a été semé en moyenne 5 cellules dans 8 unités de volume ou $^5/_8$ de cellule par unité de volume, ce qui permet de calculer le nombre des cellules qui se seraient formées dans les 24 heures, si, dans cette deuxième série, on avait, comme dans la première, semé 6,4 cellules par unité de volume.

Le calcul donne en moyenne:

112,6 cellules à 28° C. et
40,9 — - 34° -

Par conséquent, après les premières 24 heures, l'accroissement du nombre des cellules ($n'—n^0$), avec un ensemencement de 6,4 cellules, serait, par unité de volume, de

106,2 cellules à 28° C. et de
34,5 — - 34° -

et la multiplication des cellules $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ de

17,6 à 28° C. et de
6,4 - 34° -

Le nombre des générations de cellules qui se forment dans les premières 24 heures sera donc de

4,1 à 28° C. et de
2,6 - 34° -

et le temps d'une génération de cellules ou le temps qu'exige la formation d'une génération de cellules dans le même intervalle, de

5,8 heures à 28° C. et de
9,0 — - 34° -

Comparaison des deux séries d'expériences. Pour plus de clarté, nous comparerons les résultats de ces deux séries, et donnerons le nombre total des cellules qui se sont formées dans les premières 24 heures aux différentes températures, en supposant qu'on ait toujours semé 100 cellules. On trouve alors qu'il s'est produit.

225	cellules	à 4° C.
476	—	- 13°,5 -
1206	—	- 23° -
1759	—	- 28° -
639	—	- 34° -
100	—	- 38° -

En retranchant 100 de chacun de ces nombres, on obtient l'accroissement du nombre des cellules de levûre, de même que leur division par 100 en donne la multiplication.

Le temps qu'exige la formation d'une génération de cellules aux différentes températures, est indiqué dans le tableau suivant:

20	heures	à	4° C.
10,5	—	-	13°,5 -
6,5	—	-	23° -
5,8	—	-	28° -
9	—	-	34° -

L'emploi d'une représentation graphique, à l'aide de courbes ayant pour abscisses les températures et pour ordonnées le nombre, ou la multiplication de cellules qui correspond à chaque température, ou le temps correspondant qu'exige la formation d'une génération, donne de l'influence de la température sur la propagation des cellules de levûre une idée bien plus nette que la seule inspection des nombres, On peut également, au moyen de ces courbes, contrôler l'exactitude des nombres trouvés. Les figures de la Pl. I représentent respectivement: la Fig. 1, la courbe du nombre de cellules trouvé par la méthode de numération, la Fig. 2, celle de la multiplication des cellules, et la Fig. 3, celle du temps nécessaire à la formation d'une génération de cellules; on n'a pas construit celle de l'accroissement du nombre des cellules, parce qu'elle serait parallèle à la courbe Fig. 1, et aurait par suite la même forme.

Des observations on peut déduire les conclusions suivantes:

La vitesse avec laquelle la levûre basse du Saccharomyces cerevisiae se propage dans du moût non houblonné, croît avec la température, mais non proportionnellement, jusqu'à un optimum de température qui est compris entre 28° et 34° C., mais, à ce qu'il semble, plus près de 28°. Dépasse-t-on cette température, la vitesse de la propagation décroit rapidement jusqu'à un maximum qui n'est pas au-dessus de 38°, et auquel les cellules de levûre cessent de se propager.

En ce qui concerne la forme des courbes de la propagation des cellules, je ne puis, avec les observations dont je dispose, en déterminer que la partie comprise entre 4° et 28°, ou la première branche. A cette branche s'appliquent les propositions suivantes:

Entre 4° et 28°, les courbes du nombre, de l'accroissement du nombre et de la multiplication des cellules de levûre, considérées comme des fonctions de la température, sont des courbes ascendantes qui tournent leur convexité vers l'axe des abscisses.

Entre 4° et 28°, la courbe du temps de génération des cellules de levûre, considérée comme une fonction de la température, est une courbe descendante qui tourne sa convexité vers l'axe des abscisses.

Quant à la seconde branche des courbes, tout ce que j'en puis dire pour le moment, c'est qu'elle a certainement une

autre forme que la première branche; mais je me réserve de faire de nouvelles recherches sur ce sujet, comme aussi sur le mode de raccordement des deux branches, et, en général, sur la propagation des cellules de levûre à une température supérieure à 28°.

Troisième série d'expériences. Propagation des cellules pendant le second jour, à 4°, 13°,5 et 23°. Expériences No. 8—10.

Les expériences de cette série sont la continuation des expériences No. 1—3 de la première série, aprés la prise des épreuves de 1 cent. cube pour servir à la numération des cellules.

Le nombre (n″) des cellules de levûre, par unité de volume où l'on avait semé 6,4 cellules, s'élevait, après 2 fois 24 heures, à

33,4	cellules	à 4°	(Exp. No. 8),
82,6	—	- 13°,5	(Exp. No. 9),
97,2	—	- 23°	(Exp. No. 10).

Par conséquent, l'accroissement du nombre des cellules (n″—n′), pendant le second jour, était par unité de volume de

19	cellules	à 4°
52,1	—	- 13°,5
20	—	- 23°

d'où il résulte que l'accroissement du nombre des cellules, pendant cet intervalle, était très grand à 13°,5, et beaucoup moindre, mais à peu près égal à 4° et à 23°.

La multiplication des cellules $\left(\frac{n''}{n'}\right)$, pendant le second jour, était de

2,3	à 4°
2,7	- 13°,5
1,3	- 23°

et, par conséquent, très grand à 13°,5, un peu moindre à 4° et beaucoup moindre à 23°.

Le nombre des générations de cellules (g″) qui se sont formées pendant le second jour, était de

1,2	à 4°
1,4	- 13°,5
0,36	- 23°

et le temps nécessaire à la formation d'une nouvelle génération, de

20	heures	à 4°
16,7	—	- 13°,5
65,5	—	- 23°

c'est-à-dire que ce temps, à 23°, est plus de 3 fois plus long qu'à 4°, et presque 4 fois plus long qu'à 13°,5.

En résumé, la propagation des cellules, pendant le second jour, s'est faite plus rapidement à 13°,5 qu'à 4° et à 23°, température à laquelle elle a presque cessé.

Comparaison entre la propagation des cellules pendant le premier et le second jour, à 4°, 13°,5 et 23°.

On trouvera un aperçu des différences que la propagation des cellules présente pendant le premier et le second jour dans le tableau suivant, où, conformément aux notations adoptées plus haut, $n^0 = 6{,}4$ désigne le nombre de cellules semées par unité de volume, n' et n^0 le nombre de cellules par unité de volume après le premier et le second jour, g' et g'' le nombre de générations formées, t' et t'' le temps nécessaire à la formation d'une nouvelle génération pendant le premier et le second jour.

Temp.	Nombre de cellules trouvé.		L'accroissement du nombre des cellules.		Multiplication des cellules.		Temps pour la formation d'une génération.		Nombre de générations formées.	
	n'	n''	$n'-n^0$	$n''-n'$	$\frac{n'}{n^0}$	$\frac{n''}{n'}$	t' heures	t'' heures	g'	g''
4° C.	14,4	33,4	8	19	2,3	2,3	20	20	1,2	1,2
13°,5 -	30,5	82,6	24,1	52,1	5,0	2,7	10,5	16,7	2,3	1,4
23° -	77,2	97,2	70,8	20	12,8	1,3	6,5	65,5	3,7	0,36

A 4°, la propagation des cellules se fait avec la même rapidité pendant le premier et le second jour, la multiplication et le temps nécessaire à la formation d'une génération étant les mêmes dans les deux jours. Le changement survenu dans la composition du liquide nourricier est si faible, qu'il n'a eu aucune influence sur la propagation des cellules. Si l'accroissement du nombre des cellules est néanmoins plus grand le second jour que le premier, cela provient de ce que le nombre des cellules, au commencement du second jour, est plus grand qu'au commencement du premier.

A 13°,5, la propagation des cellules est plus lente le second jour que le premier, la multiplication étant plus faible, et le temps qu'exige la formation d'une nouvelle génération, beaucoup plus long le second jour que le premier. L'altération du liquide nourricier est déjà si grande qu'elle entrave la propagation des cellules. Mais, par suite de la quantité plus grande de cellules existant au commencement du second jour, l'accroissement du nombre absolu des cellules est cependant plus grand le second jour que le premier.

A 23°, la propagation des cellules est extrêmement lente pendant le second jour, la multiplication étant environ 10 fois plus faible, et le temps qu'exige la formation d'une génération, 10 fois plus long que le premier jour. Malgré la quantité bien plus grande de cellules existant au commencement du second jour, l'accroissement du nombre absolu des cellules est bien moindre le second jour que le premier.

Après le premier jour, j'ai compté, en moyenne, par unité de volume, à $13^0,5$, 16,1 cellules de plus qu'à 4^0; mais, après le second jour, il y avait par unité de volume, à $13^0,5$, 49,2 cellules de plus qu'à 4^0. Par conséquent, la différence entre le nombre des cellules à $13^0,5$ et à 4^0 était après le second jour, beaucoup plus grande qu'après le premier.

Après le premier jour, on a trouvé par unité de volume, à 23^0, 36,7 cellules de plus qu'a $13^0,5$; mais, après le second jour, on n'a compté par unité de volume, à 23^0, que 14,6 cellules de plus qu'à $13^0,5$. Par conséquent, la différence entre le nombre des cellules à 23^0 et à $13^0,5$, était, après le second jour, bien moins grande qu'après le premier.

La différence entre le nombre des cellules à une température plus élevée ne dépassant pas l'optimum de température, et à une température plus basse, croît d'abord avec le temps, mais elle décroît plus tard, lorsque, au commencement, on a semé le même nombre de cellules dans la même quantité de liquide nourricier.

Quatrième série d'expériences. Exp. No. 11 et 12.

Quel est, au bout de 8 jours, le nombre des cellules à $13^0,5$ et à 23^0, lorsqu'on en a semé le même nombre dans la même quantité de liquide nourricier?

Les expériences faites en vue de cette question sont la continuation des expériences No. 2 et 3.

Au bout de 8 jours, j'ai trouvé par unité de volume

124,6 cellules à $13^0,5$ (Exp. No. 11)
124,0 — - 23^0 (Exp. No. 12)

après avoir, au commencement, semé en moyenne 6,4 cellules par unité de volume.

La multiplication des cellules, dans ces 8 jours, était de

$$\frac{20 \times 6,23}{6,4} \text{ à } 13^0,5 \text{ et de}$$

$$\frac{20 \times 6,2}{6,4} \text{ - } 23^0$$

Par conséquent:

Lorsqu'on a semé le même nombre de cellules de levûre dans la même quantité de liquide nourricier à $13^0,5$ et à 23^0, on trouvera qu'au bout de 8 jours le nombre des cellules est égal, et, dans les deux cas, environ 20 fois plus grand que celui des cellules semées.

De l'ensemble de ces recherches, il résulte que

La température a bien de l'influence sur la rapidité avec laquelle les cellules de levûre se propagent, mais elle n'en a aucune sur le nombre total de cellules qui se forme définitivement dans une certaine quantité de liquide nourricier d'une certaine composition.

II. Sur l'influence que la concentration du liquide nourricier exerce sur la propagation des cellules de levûre.

Cette question, que je sache, n'a été jusqu'ici l'objet d'aucune recherche spéciale. Mais, d'après la théorie mécanique de la croissance de la cellule, théorie qui a servi de base à une grande partie des travaux de physiologie végétale de ces dernières années, et qui, dans la croissance de la cellule, donne un rôle principal à la tension de la cellule, c'est-à-dire à la pression que le contenu et la membrane de la cellule exercent l'un sur l'autre, il est à présumer que la concentration du liquide nourricier doit avoir une assez grande influence sur la croissance de la cellule de levûre et sans doute aussi sur sa propagation. Des recherches sur cette question, outre leur utilité pour faire mieux comprendre le rôle rempli par la cellule de levûre, présenteraient donc un grand intérêt au point de vue de la théorie mécanique de la croissance.

Jusqu'à présent, j'ai fait seulement deux expériences à ce sujet.

Expérience No. 13. Temp. 4°. Propagation des cellules de levûre, pendant les premières 24 heures, dans un liquide nourricier de concentration $^{1}/_{2}$, toujours en prenant pour point de départ du moût de bière d'un poids spécifique de 16,2 % Balling.

50 cent. cubes de ce moût clair non houblonné, contenant en moyenne 6,4 cellules par unité de volume (comme dans l'expérience No. 1), ont été ajoutés à 50 cent. cubes d'eau distillée, et le mélange a été exposé à une température de 4°. Ce liquide nourricier avait donc un volume double de celui de l'expérience No. 1, mais il renfermait la même quantité de substance nourricière et le même nombre de cellules de levûre ensemencées. Par conséquent, il y avait, par unité de volume, moitié moins de cellules que dans l'expérience No. 1, soit $n^0 = 3{,}2$ cellules.

Après 24 heures, le nombre des cellules (n') par unité de volume était de 6,54 à 4°.

Le volume du liquide nourricier étant deux fois plus grand que dans l'expérience No. 1, il contient aussi deux fois plus d'unités de volume. On aura donc:

$$\frac{\text{nombre des cellules dans l'exp. No. 1}}{\text{nombre des cellules dans l'exp. No.13}} = \frac{14{,}4}{2 \times 6{,}54} = \frac{14{,}4}{13{,}08}$$

La multiplication des cellules est de

2,3 dans l'exp. No. 1, et de
2,04 - - - 13.

Les différences entre les résultats des expériences No. 1 et No. 13 sont si petites qu'elles rentrent dans les limites des sources d'erreurs, de sorte que la dilution du liquide nourricier employé, dans la proportion essayée ici, n'a eu aucune influence sur la propagation des cellules de levûre.

Expérience No. 14. Temp. 13°,5. Propagation des cellules de levûre après un intervalle de 8 jours, dans un liquide nourricier de concentration $^{1}/_{2}$.

Elle a été faite dans les mêmes conditions que l'expérience No. 13, avec un ensemencement de 3,2 cellules par unité de volume.

Au bout de 8 jours, le nombre des cellules par unité de volume, était de

$$20 \times 3{,}15 = 63$$

et la multiplication, de

$$\frac{20 \times 3{,}15}{3{,}2} = 20 \text{ env.}$$

En comparant l'expérience No. 14 avec les expériences No. 12 et No. 13, on trouve les rapports suivants entre les nombres des cellules formées après 8 jours:

124,6 à 13°,5 (Exp. No. 11)
124,0 - 23° (Exp. No. 12)
63 × 2 = 126,0 - 13°,5 (Exp. 14).

Dans les limites ci-dessus, la concentration du liquide nourricier est sans influence sur le nombre des cellules de levûre qui se forment dans l'intervalle de 8 jours.

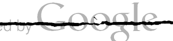
Je me réserve du reste de faire des recherches plus approfondies sur cette question.

Explication de la Planche I.

Fig. 1—1. La courbe du nombre (n') des cellules de levûre après 24 heures.

Fig. 2—2. La courbe de multiplication $\left(\frac{n'}{n^0}\right)$ des cellules de levûre après 24 heures.

Fig. 3—3. La courbe du temps nécessaire à la production d'une génération de cellules de levûre pendant 24 heures.



II.

Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation.

Par

M. RASMUS PEDERSEN.

Relativement à l'influence de l'oxygène sur la fermentation alcoolique et sur le développement de la levûre, M. Pasteur[1]) est déjà, en 1861, arrivé à ce résultat, que l'oxygène, introduit dans un liquide en fermentation, produit: 1) une fermentation plus rapide, 2) la formation d'une plus grande quantité de levûre, et 3) une diminution du rapport entre la quantité de sucre transformée en substances volatiles et la quantité de levûre formée. En Allemagne, il a été fait, dans les dix dernières années, sur l'influence de l'air atmosphérique sur la fermentation, un grand nombre de recherches, parmi lesquelles nous citerons celles de MM. Blankenhorn[2]), en 1867 et 1870, Haas et Moritz[3]), en 1871, Mayer[4]), en 1873, Moritz[5]), en 1874, Molnár[6]), en 1872, et Neubauer[7]), en 1871, 1872 et 1873. Ces recherches ont été exécutées presque exclusivement avec du moût de vin, dans lequel on a introduit de l'air, en partie avant, en partie pendant la fermentation, et on peut en résumer ainsi le résultat: Lorsque le moût est aéré pendant la fermentation, celle-ci est plus rapide et plus complète (le vin renferme plus d'alcool, mais moins de sucre, de matière extractive, d'acide et d'azote), et il se produit une plus grande quantité de levûre. En conformité avec ce résultat, on a constaté que le vin qui a été aéré pendant la fermentation, ne subit aucune, ou, en tout cas, qu'une faible fermentation secondaire, et se conserve mieux.

Il résulte en outre des recherches précédentes, que le rapport $\frac{a}{g}$ entre les quantités d'alcool (a) et de levûre (g) produites, n'est pas un rapport constant, comme quelques auteurs (M. A. Mayer[8]) par ex.), l'ont pensé, mais un rapport variable, qui, dans ces recherches, a varié de 0,7 (Neubauer) à 7,2 (Mayer), et que ce rapport est moindre dans

[1]) Pasteur: Bull. de la Soc. chim. 1861. Influence de l'oxygène sur le développement de la levûre et sur la fermentation alcoolique. — Études sur la bière. 1876, p. 255. Comptes rendus, 1861. Tom. 52, p. 1260, 1863. Tom. 57, p. 936. Études sur le vin, 2 éd., 1873, p. 277.
[2]) Blankenhorn: Annalen der Oenologie, I, p. 21, 215 et 408, II, p. 157 et 432.
[3]) Haas et Moritz: Annalen der Oenologie, II, p. 455.
[4]) Mayer: Landwirthschaftl. Versuchsstationen, XVI, p. 290.
[5]) Moritz: Bericht der deutsch. chem. Gesellschaft, 1874, p. 156.
[6]) Molnár: Annalen der Oenologie, III, p. 245.
[7]) Neubauer: Annalen der Oenologie, III, p. 138 et IV, p. 62 et 492.
[8]) Mayer: Lehrbuch der Gährungschemie, 1874, p. 138.

les cas où le moût a été aéré pendant la fermentation que dans ceux où il ne l'a pas été. Il faut cependant remarquer que ce dernier résultat n'est confirmé que par 5 expériences (4 de Neubauer et 1 de Mayer), et que M. Moritz a constaté une fois le contraire. Pour obtenir une plus grande certitude à cet égard, et pour voir comment les choses se passent lorsqu'on opère sur du moût de bière (moût de malt) et avec la levûre basse du Saccharomyces cerevisiae, j'ai, sur le désir de M. Jacobsen, et avec son concours, exécuté les expériences suivantes, dans lesquelles l'introduction de l'air atmosphérique était produite à l'aide d'un appareil à air comprimé, composé d'un cylindre en fer muni d'un manomètre et servant de réservoir, qui communiquait avec une machine de compression, et qui, pendant toute la durée de la fermentation, envoyait dans le liquide soumis à l'expérience un courant d'air atmosphérique non filtré.

Les expériences ont été exécutées dans une pièce obscure. Pour chacune d'elles, on a employé 1 ou $1^1/_2$ litre d'un moût de bière limpide, qu'on a fait fermenter dans un verre cylindrique en y ajoutant un poids connu de levûre. La marche de la fermentation a été suivie chaque jour avec le saccharomètre (de Kayser ou de Balling), et, par la dessication et le pesage, on a dosé directement la matière extractive et la levûre. En retranchant la levûre ajoutée de celle qui est recueillie par filtration à la fin de l'expérience, on trouve combien il s'en est produit, et cette quantité soustraite du poids de matière extractive consommé, donne la quantité d'extrait qui s'est transformée en combinaisons volatiles. Toutes les expériences d'une même série ont été mises en train en même temps, et exécutées avec la même quantité du même moût, et avec l'addition de la même quantité de la même levûre.

Première série d'expériences. Température de 7—8° C.

Expérience No 1. Le moût a été chauffé pendant 2 heures à 85—90° C., et aéré en même temps. Introduction de l'air atmosphérique pendant la fermentation.

Expérience No 2. Le moût n'a été ni chauffé ni aéré avant la fermentation. Introduction de l'air atmosphérique pendant la fermentation.

Expérience No 3. Le moût n'a pas été chauffé, et on ne l'a aéré ni avant ni pendant la fermentation. Le verre cylindrique renfermant le moût était recouvert d'une plaque de verre.

Au bout de 12 jours, le poids de la levûre séchée était de

$8^{gr.},29$	dans l'expérience	N°	1
$8^{gr.},28$	-	—	- 2
$5^{gr.},58$	-	—	- 3

Par conséquent:

La quantité de levûre formée dans le moût aéré pendant la fermentation est la même, que ce moût ait été ou non chauffé à 85—90° et aéré avant la fermentation.

Dans le moût qui est aéré pendant la fermentation, il se forme une quantité de levûre plus grande que dans le même moût non aéré.

Deuxième série d'expériences. Température de 6—8° C.

Le poids spécifique du moût employé était de 13% Balling, et il renfermait $0^{gr.}$,652 de matière extractive séchée à 100° C. par 5 centimètres cubes. A chaque litre de moût on a ajouté un poids de levûre, pris de l'appareil de M. Pasteur, correspondant à $0^{gr.}$,84 de levûre sèche.

Les expériences terminées, on a trouvé:

Expériences.	Poids spécifique (Balling).		Extrait dans 5 cent. cubes.		Levûre sèche (y compris celle ajoutée = 0,84).		Durée de l'expérience.
	Aéré.	Non aéré.	Aéré.	Non aéré.	Aéré.	Non aéré.	
	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	
1	12,3	12,4	0,638	0,639	1,39	1,58	21—23 Mars, 2 jours.
2	11,3	11,3	0,617	0,625	2,86	1,75	21—24 — 3 —
3	9,5	10,3	0,513	0,535	4,00	2,94	21—26 — 5 —
4	8.7	9,1	0,480	0,493	3,91	3,13	21—27 — 6 —
5	7,8	8,1	0,441	0,451	3,99	3,26	21—28 — 7 —
6	6,3	7,7	0,381	0,446	4,95	2,63	21—29 — 8 —
7	5.6	6,4	0,352	0,389	4,94	2,98	21—31 — 10 —
8	4.6	5,5	0,307	0,348	5,69	3,30	21 Mars au 2 Avril 12 jours.

	Diminution du poids spécifique (Balling).			Extrait consommé dans 1 Litre.			Levûre produite.			Extrait décomposé dans 1 Litre.		
	Aéré. A.	Non aéré. B.	Différence. A-B.	Aéré. A.	Non aéré. B.	Différence. A-B.	Aéré. A.	Non aéré. B.	Différence. A-B.	Aéré. A.	Non aéré. B.	Différence. A-B.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
Dans 2 jours (Exp. No 1)	0,7	0,6	0,1	2,8	2,6	0,2	0,55	0,04	÷1,0	2,25	1,86	0,39
- 3 - (- - 2)	1,7	1,7	0,0	7,0	5,4	1,6	2,02	0,91	1,11	4,98	4,49	0,49
- 5 - (- - 3)	3,5	2,7	0,8	27,8	23,4	4,4	3,16	2,10	1,06	24,64	21,30	3,34
- 6 - (- - 4)	4,3	3,9	0,4	34,4	31,8	2,6	3,07	2,29	0,78	31,33	29,51	1,82
- 7 - (- - 5)	5,2	4,9	0,3	42,2	40,2	2,0	3,15	2,42	0,73	39,05	37,78	1,27
- 8 - (- - 6)	6,7	5,3	1,4	54,2	41,2	13,0	4,11	1,79	2,32	50,09	39,41	10,68
-10 - (- - 7)	7,4	6,6	0,8	60,0	52,5	7,4	4,10	2,14	1,96	55,90	50,46	4,44
-12 - (- - 8)	8,4	7,5	0,9	69,0	60,8	8,2	4,85	2,46	2,39	64,15	58,34	5,81

Les résultats donnés dans ces tableaux et dans l'aperçu graphique de la Pl. 2, Fig. A—D, permettent de conclure que:

Lorsque le moût est aéré pendant la fermentation, la diminution du poids spécifique, la consommation de matière extractive, l'augmentation de poids de la levûre

et la quantité de matière transformée en combinaisons volatiles, sont plus grandes que lorsque le moût n'a pas été aéré.

Troisième série d'expériences. Température de 12—15° C.

Le poids spécifique du moût employé était de 13,2 % Balling, et il renfermait 1gr.,435 de matière extractive par 10 centimètres cubes. On a ajouté par litre un poids de levûre correspondant à 0gr.,65 de levûre sèche. Dans chaque expérience, on a opéré avec une série de trois verres cylindriques, à savoir un (A) dont le contenu, agité toutes les heures avec une baguette de verre pour empêcher la levûre de se précipiter, a été aéré pendant la fermentation, et deux autres (dont l'un (B) ouvert et l'autre (C) recouvert d'une plaque de verre) qui n'ont pas été aérés.

Les expériences terminées, on a trouvé:

	Poids spécifique (Balling).			Extrait dans 10 cent. cubes.			Levûre sèche (y compris celle ajoutée)		
	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
Exp. No 9, 23—25 Mai	7,45	7,77	7,90	0,881	0,935	0,939	4,369	3,810	3,669
Exp. No 10, 23—26 Mai	5,16	5,46	5,85	0,779	0,822	0,847	5,089	4,740	3,714
Exp. No 11, 23—27 Mai	3,66	4,94	5,14	0,627	0,776	0,784	5,776	4,877	4,330

	Diminution du poids spécifique (Balling).			Extrait consommé dans 1 Litre			Levûre produite dans 1 Litre.			Extrait décomposé dans 1 Litre.		
	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.
	%	%	%	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
Dans 2 jours (Exp. No 9)	5,75	5,43	5,30	55,4	50,0	49,6	3,719	3,160	3,019	51,681	46,840	46,581
- 3 - (- -10)	8,04	7,74	7,35	65,6	61,3	58,8	4,439	4,090	3,064	61,161	57,210	55,736
- 4 - (- -11)	9,54	8,26	8,06	80,8	65,9	65,1	5,126	4,227	3,680	75,674	61,673	61,420

De ces tableaux et de la Pl. 2, Fig. G—K, qui donne les résultats représentés par la méthode graphique, on peut déduire la même conclusion que dans la série précédente, et de plus la suivante:

Lorsque le moût n'a pas été aéré pendant la fermentation, mais que le verre où l'on opère est recouvert d'une plaque de verre qui préserve en partie la surface du liquide de l'action de l'atmosphère, la diminution

du poids spécifique, la consommation de matière extractive, le poids de la levûre produite et la quantité de matière extractive transformée en combinaisons volatiles, sont moindres que lorsque le verre reste ouvert pendant la fermentation.

Si nous demandons maintenant quelle est l'influence de l'introduction de l'air atmosphérique sur la force ou l'activité fermentative de la levûre, nous rencontrons cette difficulté, que les substances nutritives diminuent et la levûre varie en quantité pendant la fermentation, de sorte que le travail de la fermentation n'est exécuté ni par la quantité de levûre existant au commencement de l'expérience, ni par celle qu'on trouve à la fin, mais par une quantité moyenne qui est inconnue et qu'on ne peut non plus calculer exactement, puisque nous ne connaissons pas la loi d'après laquelle la levûre se multiplie pendant la fermentation. Mais, si l'on admet approximativement que la levûre s'accroît proportionnellement au temps, le poids moyen ci-dessus mentionné sera égal à la moyenne des poids de levûre trouvés au commencement et à la fin de l'expérience. Comme mesure de la force ou de l'activité fermentative de la levûre, on pourra alors prendre le rapport $\frac{t}{g}$ entre la quantité de matière extractive transformée en combinaisons volatiles (t) et le poids moyen de la levûre (g), ou la quantité d'extrait décomposée par 1 gramme de levûre. Les résultats des expériences relativement à l'influence de l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût sur l'activité de la levûre, sont indiqués dans les tableaux suivants.

	Quantité moyenne de levûre, g.		Extrait décomposé dans 1 Litre. t.		Activité de la levûre, $\frac{t}{g}$.		A—B.
	Aéré. A.	Non aéré. B.	Aéré. A.	Non aéré. B.	Aéré. A.	Non aéré. B.	
	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.			
Dans 2 jours, Exp. No 1	1,11	1,21	2,25	1,86	2,0	1,5	— 0,5
— 3 — — - 2	1,85	1,29	4,98	4,49	2,7	3,5	0,8
— 5 — — - 3	2,42	1,89	24,64	21,30	10,2	11,3	1,1
— 6 — — - 4	2,37	1,98	31,33	29,51	13,2	14,9	1,7
— 7 — — - 5	2,41	2,05	39,05	37,78	16,2	18,4	2,2
— 8 — — - 6	2,89	1,73	50,09	39,41	17,3	22,8	5,5
— 10 — — - 7	2,89	1,91	55,90	50,46	19,3	26,4	7,1
— 12 — — - 8	3,26	2,07	64,15	58,34	19,7	28,0	8,3

	Quantité moyenne de levûre, g.			Extrait décomposé dans 1 Litre, t.			Activité de la levûre, $\frac{t}{g}$.			B—A.	C—A.	C—B.
	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.	Verre aéré. A.	Verre ouvert. B.	Verre couvert. C.			
	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.						
Dans 2 jours (Exp. No 9)	2,509	2,230	2,159	51,681	46,840	46,581	20,6	21,0	22,0	0,4	1,4	1,0
- 3 - (- - 10)	2,869	2,645	2,189	61,161	57,210	55,736	21,3	21,6	25,5	0,3	4,2	3.9
- 4 - (- - 11)	3,213	2,763	2,490	75,675	61,675	61,420	23,5	22,3	24,6	—1,2	1,1	2,3

Les résultats donnés dans ces tableaux et dans l'aperçu graphique de la Planche 2, Fig. E, F, permettent de conclure que:

Lorsque le moût est aéré pendant la fermentation, la force ou l'activité fermentative de la levûre est moindre que lorsqu'il n'est pas aéré, ou, en d'autres termes: La quantité de matière extractive transformée en combinaisons volatiles par 1 grm. de levûre, est moindre dans le moût aéré pendant la fermentation, que dans le moût non aéré.

Explication de la Planche 2.

A. Poids en grammes de la matière extractive transformée en combinaisons volatiles.
B. Poids en décigrammes de la levûre sèche.
C. Poids en centigrammes de la matière extractive contenue dans 5 centimètres cubes.
D. Poids spécifique en centièmes du saccharomètre de Balling.
E. et F. Force ou activité fermentative de la levûre.
G. Poids spécifique en millièmes du saccharomètre de Balling.
H. Poids en centigrammes de la matière extractive contenue dans 10 centimètres cubes.
I. Poids en grammes de la matière extractive transformée en combinaisons volatiles.
K. Poids en grammes de la levûre sèche.

Dans chacune des parties I, II et III du tableau de la Pl. 2, il faut lire les nombres à gauche, de 0 à 65 dans I, de 0 à 32,5 dans II et de 35 à 100 dans III.

1, 2, 3, 4 etc., numéros des expériences.

× Expériences avec introduction d'air atmosphérique.

— Expériences sans introduction d'air, mais avec le verre ouvert.

● Expériences sans introduction d'air, avec le verre couvert.

III.

Recherches sur l'influence de la température sur la production de l'acide carbonique par l'orge germée, dans l'obscurité.

Par

M. RASMUS PEDERSEN.

M. Sachs[1]) a, en 1865, appelé l'attention sur l'influence de la température sur la production de l'acide carbonique par les plantes germantes; mais, pendant les dix années suivantes, cette question n'a été abordée, par exemple, ni par M. Wiesner[2]) (1871), ni par MM. Sachsse[3]) (1872) et Detmer[4]) (1875), dans leurs recherches sur l'acide carbonique produit par les plantes germantes.

M. Laskovsky[5]) (1874) a, le premier, fait des recherches sur cette influence de la température; mais, comme elles n'embrassent qu'un très petit nombre de degrés du thermomètre, on peut bien en conclure que la production d'acide carbonique croît avec la température, mais non découvrir la loi de cet accroissement.

M. Borodin[6]) (1875) a trouvé que 1gr.,8 de graines de cresson germées, dans le temps où le dégagement d'acide carbonique était le plus fort, produisaient par heure 0gr.,004 d'acide carbonique à 11—12°, 0gr.,006 à 15 - 16°, 0gr.,008 à 19—20° et 0gr.,009 à 24°. Il en conclut que la production d'acide carbonique est proportionnelle à la température, et qu'elle n'a pas de température optimum. Mais, dans le doute si ces différences, dont la valeur absolue en milligrammes est si minime, sont le résultat des observations ou du calcul, on ne saurait avoir grande confiance dans des expériences faites à l'occasion d'une recherche tout à fait étrangère à notre question.

M. Rischawi[7]) (1876) a déduit le même résultat de ses recherches sur les plantes germantes de la Vicia Faba.

Dans sa première série d'expériences, avec 23 plantes germantes, il a trouvé pour le dégagement d'acide carbonique par heure:

---

[1]) Sachs: Handb. d. Experimentalphysiol. d. Pflanzen. p. 269.
[2]) Wiesner: Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1871. 1 Abth. October Heft, p. 3 et 9 (Imprimé à part).
[3]) Sachsse: Ueber einige chem. Vorgänge bei d. Keimung von Pisum sativum. Habilitationsschrift. Leipzig 1872.
[4]) Detmer: Physiol. chem. Untersuch. üb. d. Keimung ölhaltiger Samen. 1875.
[5]) Laskovsky: Landwirthschaftl. Versuchsstationen. 1874. Bd. XVII, p. 219.
[6]) Borodin: Actes du congrès botanique international de Florence 1875, d'après le compte rendu dans Botanischer Jahresbericht 1875. (Berlin 1877), p. 881.
[7]) Rischawi: Landwirthschaftl. Versuchsstationen. 1876. Bd. XIX, p. 321.

39,6	milligrammes	à	20°
32,3	—	-	18°
21,22	—	-	6°
10,56	—	-	2°

La deuxième série d'expériences, avec 18 plantes germantes, a donné, également par heure:

24,42	milligrammes	à	19°
7,26	—	-	3°

et la troisième, avec 15 plantes germantes, par demi-heure:

12,21	milligrammes	à	20°
23,76	—	-	30°
29,70	—	-	35°

De ces expériences, M. Rischawi a conclu que la respiration croît presque proportionellement à la température „die Athmung steigert sich beinahe proportional der Temperatur". M. A. Mayer[1]), qui les connaissait avant leur publication, en a pris occasion pour ne pas publier celles qu'il avait faites lui-même sur les plantes germantes du froment, les expériences de Rischawi étant, suivant lui, bien plus propres à montrer que la courbe qui représente le dégagement de l'acide carbonique semble être une ligne droite. Les recherches de M. Mayer paraissent avoir donné un résultat un peu différent, et voici ce qu'il en dit: „Nur eine schwache Convexität der Kohlensäureausscheidungskurve gegen die Abscissenachse der Temperatur wurde beobachtet."

Je me suis servi pour mes expériences de plantes germantes d'orge, dont le degré de développement était tel, que la plumule était sur le point de percer le tégument ou l'avait déjà percé. Toutes les expériences d'une même série ont été exécutées avec les mêmes plantes dans une pièce obscure. Les plantes germantes humectées d'eau étaient placées dans un flacon à trois tubulures, et celle du milieu livrait passage à un long thermomètre dont la boule était en contact avec les plantes germantes. Le flacon était traversé par un courant d'air atmosphérique humide, débarrassé préalablement de toute trace d'acide carbonique, et l'acide carbonique produit par les plantes germantes était absorbé par de l'eau de baryte dans de longs tubes de Pettenkofer. L'acide carbonique a été dosé au moyen d'une dissolution titrée d'acide oxalique d'après la méthode de Pettenkofer, mais, comme indicateur, on a employé l'acide rosolique au lieu de papier de curcuma. Pour obtenir des températures constantes, on plongeait le flacon dans un vaisseau de verre renfermant de l'eau à la température voulue et entouré de ouate. Quant aux basses températures, on les produisait avec de la glace.

Les expériences ont donné les résultats suivants:

Première série d'expériences. 500 plantes. Courbe 1. Planche 3.

---

[1]) Mayer: Landwirthschaftl. Versuchsstationen. 1876. Bd. XIX, p. 348.

	Temp.	Quantité de CO^2 observée.	Quantite de CO^2 dégagée dans 1 heure.
Exp. No 1	0°,3 C.	21 millig. en 2 heures	10,5 millig.
— - 2	5° -	30 — - 2 —	15 —
— - 3	16° -	66,5 — - 2½ —	26,6 —
— - 4	26° -	64 — - 1 —	64 —
— - 5	33°,6 -	94 — - 1 —	94 —

Deuxième série d'expériences. 1000 plantes. Courbe 2. Planche 3.

	Temp.	Quantité de CO^2 observée.	Quantité de CO^2 dégagée. dans 1 heure.
Exp. No 6	0°,87 C.	26 millig. en 4 heures	6,5 millig.
— - 7	7° -	27 — - 3 —	9 —
— - 8	16°,5 -	68 — - 3 —	22,7 —
— - 9	18° -	55,2 — - 2 —	27,6 —
— - 10	29°,5 -	111,2 — - 2 —	55,8 —
— - 11	33°,4 -	60 — - 1 —	60 —

Troisième série d'expériences. 1000 plantes. Courbe 3. Planche 3.

	Temp.	Quantité de CO^2 observée.	Quantité de CO^2 dégagée dans 1 heure.
Exp. No 12	4°,5 C.	38 millig. en 4 heures	9,5 millig.
— - 13	8°,1 -	27 — - 2½ —	10,8 —
— - 14	15°,3 -	33 — - 2 —	16,5 —
— - 15	18° -	121,5 — - 5 —	24,3 —

Quatrième série d'expériences. 200 plantes. Courbe 4. Planche 3.

	Temp.	Quantité de CO^2 observée.	Quantité de CO^2 dégagée dans 1 heure.
Exp. No 16	5° C	9,4 millig. en 2 heures	4,7 millig.
— - 17	18° -	28,8 — - 3 —	9,6 —
— - 18	27°,8 -	17,4 — - 1 —	17,4 —

Cinquième série d'expériences. 1000 plantes. Les expériences ont été faites immédiatement l'une après l'autre sans interruption.

	Temp.	Quantité de CO^2 observée.	Quantité de CO^2 dégagée dans 1 heure.
Exp. No 19	0° C.	12,5 millig. en 3 heures	4,2 millig.
— - 20	0° -	8 — - 2 —	4,0 —
— - 21	0°—4°,5 -	61 — - 12 —	5,1 —
— - 22	0° -	21 — - 4 —	5,2 —

De ces tableaux et des courbes de la Planche 3, qui sont construites en prenant les températures pour abscisses et les poids de CO^2 dégagés par heure pour ordonnées, on peut tirer les conclusions suivantes:

La courbe qui représente le dégagement d'acide carbonique des jeunes plantes germantes de l'orge, considérée comme une fonction de la température, est une ligne courbe dont les ordonnées croissent avec les abscisses, et qui tourne sa convexité vers l'axe des abscisses. Elle a d'abord une faible courbure et s'élève lentement; puis, vers 15—18°, elle présente une partie fortement courbée, à laquelle succède une autre partie ayant une faible courbure, et qui s'élève très rapidement.

La quantité d'acide carbonique qui se dégage des jeunes plantes germantes de l'orge, croît avec la température dans les limites de mes expériences de 0° à 33°,5, mais non proportionnellement à la température. Aux températures basses, le dégagement d'acide carbonique croît très lentement, mais, arrivé à 15—18°, il augmente très rapidement.

Si le dégagement d'acide carbonique des jeunes plantes germantes de l'orge a un optimum et un maximum de température, ceux-ci ne se trouvent pas au-dessous de 33°,5.

Les jeunes plantes germantes de l'orge produisent de l'acide carbonique même à la température de 0° C.

En ce qui concerne les recherches ci-dessus mentionnées de M. Rischawi (pag. 44), on ne peut se faire une idée de la vraie forme de la courbe qui représente le dégagement de l'acide carbonique, par une série isolée d'expériences, mais seulement en comparant la première et la troisième série de ses expériences. Si l'on soumet cette dernière à un nouveau calcul pour la rendre comparable à la première, c'est-à-dire si l'on calcule le poids d'acide carbonique que le même nombre de plantes produirait dans le même temps que dans la première série, on trouve par heure.

37,4	milligrammes	CO^2	à	20° C.
72,9	—	—	-	30° -
91,1	—	—	-	35° -

Et si les plantes de la troisième série avaient été identiques à celles de la première, elles auraient donné

39,6	milligrammes	CO^2	à	20° C. et par suite
77,1	—	—	-	30° - et
96,9	—	—	-	35° -

En construisant maintenant la courbe entière entre 2° et 35°, comme je l'ai fait Fig. 5 Pl. 3, on obtient une courbe essentiellement de la même forme que celle qui représente le dégagement d'acide carbonique produit par l'orge germée. Si, comme on l'a cru, les recherches de M. Rischawi ont paru établir que la courbe dont il s'agit, considérée comme fonction de la température, était une ligne droite, et la production de l'acide carbonique, proportionnelle à la température, cela vient peut-être de ce qu'on n'a considéré que chaque série d'expériences prise isolément, c'est-à-dire la partie de la courbe entre 2° et 20° et la partie entre 20° et 35°, mais non l'ensemble de la courbe de 2° à 35°.

Les recherches bien comprises de M. Rischawi sur l'influence de la température sur la production d'acide carbonique par les plantes germantes, de même que les recherches inédites de M. Mayer sur les plantes germantes du froment, et celles que j'ai faites avec les plantes germantes de l'orge, concordent toutes en ce point que, dans les limites des températures employées, la courbe représentant la production de l'acide carbonique, considérée comme fonction de la température, est une ligne courbe dont les ordonnées croissent avec les abscisses, et qui tourne sa convexité vers l'axe des abscisses.

Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre.

Par

Emil Chr. Hansen.

1. Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière.

(Première communication.)

Méthodes de recherche.

Parmi les nombreuses recherches dont les organismes microscopiques de l'air ont été l'objet dans les dernières années, celles de MM. Pasteur, Tyndall et Cohn, et surtout du premier de ces savants, méritent une attention toute spéciale. Grâce à ses travaux, nous savons que les germes de levûre ne sont en général répandus dans l'air qu'en nombre relativement peu considérable, tandis que ceux des moisissures y sont très abondants, et ses expériences ont aussi démontré que la quantité et les espèces des organismes contenus dans l'air varient d'un lieu à un autre. Outre les moisissures et les bactéries dont il ne donne pas les noms systématiques, et les Torula, qu'il rapporte tantôt au Sacch. Mycoderma tantôt au Dematium, M. Pasteur a trouvé dans ses expériences les organismes suivants: Mucor racemosus, Sacch. Mycoderma, Sacch. Pastorianus, Sacch. ellipsoideus, Sacch. apiculatus, Sacch. cerevisiæ et les bactéries des acides butyrique et lactique. Comme liquides nourriciers, il a employé les moûts de bière et de raisin et l'eau de levûre additionnée de sucre. Les liquides étaient versés partie dans des capsules plates, qu'il exposait ensuite à l'air dans les endroits où il désirait faire ses expériences, partie dans des ballons dont le col était étiré en pointe et qu'il fermait à la lampe pendant l'ébullition du liquide, après que tout l'air qu'ils renfermaient en avait été expulsé par les vapeurs. Lorsque plus tard il en brisait la pointe là où il désirait prendre un échantillon de l'air, ils se remplissaient par aspiration. Quant au liquide des capsules, après avoir été exposé pendant 24—28 heures à l'action de l'air, il était versé dans des ballons à long col, qu'il fermait et plaçait ensuite dans un thermostat à 25° C.

Mes recherches n'ont pas, comme celles de M. Pasteur, eu pour objet principal l'étude des Saccharomyces; mais j'ai en général cherché à me familiariser tous les organismes qui peuvent être apportés par les poussières de l'air dans le moût de bière et s'y développer, et me suis proposé en même temps de vérifier par des observations personnelles l'exactitude des théories existantes.

Comme liquide nourricier j'ai employé le moût de bière houblonné clair; il est en effet plus facile à stériliser par l'ébullition que le moût non houblonné, et en général plus commode à traiter que ce dernier. Dans la plupart de mes expériences, je me suis servi de flacons de $^1/_4$ de litre à large orifice, remplis ordinairement aux $^2/_3$ du moût susmentionné. Après que celui-ci avait bouilli un certain temps, j'appliquais sur l'orifice des flacons, en l'assujettissant autour de goulot, une feuille de papier à filtrer préalablement passée par une flamme pour brûler les poussières, et à travers laquelle je laissais, pendant un temps assez long, s'élever les vapeurs du moût constamment maintenu en ébullition, mais naturellement de façon à éviter toute rupture. Une seconde feuille de papier à filtrer soumise au même traitement était ensuite attachée sur la première et exposée également, pendant une ébullition prolongée, à l'action des vapeurs. Le moût traité de cette manière se conserve aussi bien que dans les ballons à deux cols de M. Pasteur. J'ai gardé de ces flacons pendant une année, et le contenu en est toujours resté clair et inaltéré à l'abri des attaques des organismes. Ils étaient cependant placés dans un local dont l'air, par suite des expériences qu'on y faisait, était constamment rempli de bactéries et autres organismes pour lesquels le moût constitue un excellent liquide nourricier. Autant que je sache, c'est M. Brefeld qui, le premier, a fait connaître cette méthode.

Non-seulement les moisissures, mais aussi les saccharomyces et les bactéries m'ont donné une vigoureuse végétation, et les cultures ainsi établies ont en général bien répondu au but que je m'étais proposé. En suivant les indications de M. Pasteur, je me suis également servi de ballons vides d'air; les uns avaient une capacité de 300 cent. cub., les autres de 200 c. c. seulement, et ils étaient remplis de moût environ à moitié; après avoir été ouverts, ils absorbaient par conséquent, les grands 150, et les petits 100 cent. cub. d'air environ. J'ai en outre employé la méthode d'aspiration de M. Cohn, en mettant un aspirateur en communication avec un grand flacon ou un ballon Pasteur à deux cols. Après y avoir fait passer la quantité d'air voulue, je fermais avec des bouchons d'asbeste chauffés au rouge les tubes qui traversaient le bouchon du flacon; quant au ballon Pasteur, je le fermais comme à l'ordinaire avec son bouchon en verre. Je laissais toujours le moût bouilli reposer quelque temps avant de m'en servir, afin de m'assurer qu'il ne contenait pas de germes. Dans tous les cas, avant d'ouvrir les flacons et les ballons que j'exposais en différents lieux à l'action de l'air, je brûlais avec une lampe les poussières qui s'étaient déposées sur leurs parois. Un peu auparavant, j'avais toujours soin de mettre un par-dessus en guttapercha bien lavé, et de passer par une flamme aussi bien mes mains que les ciseaux et les pinces dont je me servais; en un mot je cherchais à observer

toutes les précautions qu'exigent de telles recherches. Après que les flacons et les ballons étaient restés pendant un certain temps au contact de l'air, je les fermais, les premiers avec du papier à filtrer préalablement exposé à des vapeurs brûlantes et passé par une flamme un peu avant de servir, et les seconds avec de la cire à coller. Puis ils étaient en général tous placés dans le thermostat à une température variant entre 16 et 27° C., limites qui semblent le mieux convenir au développement des organismes dont il s'agit. Pour éloigner, dans les journées chaudes de l'été, les mouches et autres insectes qui étaient attirés par le moût exposé à l'air, je nouais un morceau de gaze autour de l'orifice des flacons pendant que le liquide était en ébullition, ou les recouvrais d'une toile métallique. De ces deux moyens, le premier est sous plusieurs rapports le meilleur. Le motif qui m'a, dans la plupart des cas, fait employer les flacons, c'est qu'ils sont d'un maniement relativement plus facile, qu'on est avec eux moins exposé à commettre des erreurs qu'en se servant, par exemple, de capsules plates, et par suite qu'on a plus de chance d'obtenir un résultat certain. A cela il faut ajouter que, quoique le moût n'y présente pas une grande surface aux organismes de l'air, ils se sont cependant montrés pratiques aussi sous ce rapport; car ils ont donné non-seulement une abondante végétation, mais aussi un grand nombre de formes diverses, dont plusieurs n'ont pas été observées auparavant dans les mêmes circonstances. Dans les expériences qui seront poursuivies au laboratoire, on emploiera conjointement avec les flacons de grands ballons vides d'air et des bocaux à orifice plus large que celui des flacons, afin d'acquérir une plus grande expérience relativement au meilleur procédé à employer.

Les indications relatives au temps et à la température ont été prises dans le journal que tient M. A. N. Hansen, jardinier de Carlsberg, et qu'il a bien voulu me communiquer. Le thermomètre était placé dans une caisse en bois à 1^m, 25 au-dessus du sol. — Quant à ma manière de caractériser les espèces mentionnées dans ce mémoire, je renverrai aux planches et aux listes des espèces que j'ai observées dans la bière et le moût de bière.

Analyses.

1 Mai 1878. 1re série d'expériences.

De 12 flacons remplis aux $^3/_4$, 2 furent placés sur un banc au fond du jardin de Carlsberg, 2 dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg, 2 à Faxehus, 2 à Valbjerg, 2 dans la cave de fermentation haute du nouveau Carlsberg et 2 dans la cave de fermentation basse de la même brasserie. Faxehus et Valbjerg sont les noms de 2 villas situées dans le voisinage de Carlsberg. Les flacons du jardin furent retirés au bout de 5 heures et les autres au bout de 18 heures, après quoi on les exposa successivement tous dans le thermostat à une température de 19° C. Temps et température dans le jardin: 1 Mai. S-E. Couvert. Min. 5°, Max. 17° C.

17 Mai. Les 2 flacons du jardin: ils renfermaient tous deux un précipité floconneux grisâtre, le liquide semblait d'ailleurs n'avoir pas subi d'altération; il était rouge-brun et clair. Cependant, dans un des flacons, apparaissait à la surface, contre les parois du vase, un anneau blanchâtre, mucilagineux, formé d'un mycélium à hyphes très minces et privées de fructification. Le précipité se composait d'un mycélium incolore, bien développé, ramifié, cloisonné, également sans fructification.

27 Mai. Un des flacons de la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg: liquide assez trouble, brun, avec un léger précipité. A sa surface, une membrane forte, épaisse, tenace, presque semblable à un morceau de peau, qui, à sa partie supérieure, était blanche, laineuse et formée d'un réseau d'hyphes grisâtres, ramifiées, cloisonnées, mais sans fructification; au fond, des hyphes semblables, mais moins fortement entrelacées. Quelques microbactéries et très peu d'articles de Bacillus subtilis.

Le second flacon de la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg: liquide comme le précédent; à sa surface, une épaisse membrane velue, gris-verdâtre et blanchâtre, grossièrement plissée, qui, à sa partie supérieure, présentait une riche fructification de Penicillium glaucum et était d'ailleurs formée d'un réseau serré d'hyphes ramifiées et cloisonnées. Au fond, des formations floconneuses et moins compactes, composées d'hyphes dont les articles, notamment les terminaux, étaient assez fréquemment renflés en forme de poire ou de boule, et dont le protoplasma se retirait souvent des parois en présentant l'aspect d'une masse granulée gris-jaunâtre. La Fig. 20 de M. Pasteur, Etudes sur la bière, p. 103, répond au total à cette description.

27 Mai. Un des flacons de Faxehus: liquide assez trouble, jaunâtre. Sur une partie de sa surface, des amas épais, grossiérement plissés, blancs et gris-verdâtre d'hyphes ramifiées, cloisonnées, formant un tissu très serré, d'où s'élevait une riche fructification de Penicillium cladosporioides. Précipité gris-jaunâtre, assez abondant, composé d'une multitude de microbactéries, de quelques Saccharomyces Mycoderma, de petites cellules de Sacch. cerevisiæ, de Bacillus subtilis et de courtes chaînes de Mycoderma aceti.

Le second flacon de Faxehus: liquide comme le précédent; à sa surface, une membrane épaisse, tenace, mucilagineuse, gris-jaunâtre, formée d'une vigoureuse végétation de Dematium pullulans, qui, sur la face inférieure de la membrane, commençait à devenir noir-verdâtre. Précipité léger, composé de cellules tombées de la membrane. Ce flacon avait été placé au grenier, tandis qu'on avait exposé le premier dans le salon.

7 Juin. Un des flacons de Valbjerg: liquide clair, brun, avec un léger précipité gris-jaunâtre; la surface en était couverte d'une membrane épaisse, tenace, gris-jaunâtre, formée d'un mycélium anormal, fortement développé de Mucor, et identique, dans ses parties essentielles, avec celui de la Pl. V de M. Pasteur; il était très riche

en grains et en corps sphériques tous réfringents mais sans fructification. Le précipité se composait des particules tombées de la membrane.

Le second flacon de Valbjerg: liquide comme le précédent; la surface en était couverte d'une membrane épaisse, tenace, gris-jaunâtre, d'où descendait jusqu'au fond du flacon un riche mycélium, et s'élevait une abondante fructification de Mucor stolonifer. Le précipité se composait également des particules tombées de la membrane.

18 Mai. Un des flacons de la cave de fermentation haute du nouveau Carlsberg: liquide trouble, brunâtre, avec un précipité gris-jaunâtre assez volumineux. A sa surface, contre les parois du vase, un anneau blanchâtre formé de membranes minces, qui se composaient en partie de Saccharomyces cerevisiæ (de grandes cellules rondes, sans aucun doute des formes de levûre haute), en partie de microbactéries et de Bacillus subtilis, et de quelques chaînes de Mycoderma aceti. Quelques-unes des cellules de levûre avaient la forme de boudin et rappelaient le Saccharomyces Pastorianus. Dans le précipité, les mêmes formes.

Le second flacon de la cave de fermentation haute du nouveau Carlsberg: liquide comme le précédent. A sa surface, une membrane grise, mince, unie, mate, composée de nombreuses petites cellules rondes appartenant certainement au Saccharomyces Mycoderma. Au-dessous de la membrane et nageant dans le liquide, un amas floconneux d'un mycélium grisâtre, ramifié, dont plusieurs articles étaient renflés. Le précipité se composait principalement des mêmes éléments, mais plusieurs cellules renfermaient des gouttes huileuses, et il s'y trouvait quelques grandes cellules de Saccharomyces cerevisiæ, ainsi qu'un Sacch. Mycoderma type comme celui de Reess, Pl. IV, Fig. 10—11; très peu de microbactéries.

18 Mai. Un des flacons de la cave de fermentation basse du nouveau Carlsberg: liquide assez trouble avec un précipité gris-jaunâtre; à sa surface, un espace assez grand couvert d'une moisissure grise, d'où s'élevaient de nouveau des touffes feutrées blanches et gris-bleuâtre. Ces dernières se composaient de Penicillium glaucum en fructification, le reste de Mucor racemosus, en partie de sporanges, en partie d'un riche mycélium ramifié, cloisonné, à parois épaisses et à protoplasma granulé, gris-jaunâtre, qui d'ordinaire était ramassé au milieu des articles renflés, souvent de forme sphérique. Pl. V de Pasteur. Près de la surface on remarquait en outre quelques cellules de Saccharomyces cerevisiæ, parmi lesquelles plusieurs en forme de boudin. Le précipité renfermait des cellules normales de Sacch. cerevisiæ (levûre basse), mélangées avec une grande quantité de celles en forme de boudin.

Le second flacon de la cave de fermentation basse du nouveau Carlsberg: liquide comme le précédent; à sa surface, une petite touffe de moisissures grises de Mucor racemosus, dont les rameaux de mycélium avaient souvent la même nature que ceux mentionnés plus haut; en outre beaucoup de Saccharomyces cerevisiæ

avec très peu de cellules en forme de boudin; un assez grand nombre de microbactéries. Le précipité était en majeure partie formé de Sacch. cerevisiæ.

29 Juin. 2me série d'expériences.

6 flacons, remplis aux $^3/_4$, furent placés sous les cerisiers, les groseillers épineux et dans le pavillon, 2 en chaque endroit. Au bout de 48 heures, ils furent tous retirés et mis dans le thermostat à 22—24° C. Temps et température dans le jardin: 29 Juin. S. Clair. Min. 13°, Max. 31° C. — 30 Juin. S. Clair. Min. 14°, Max. 26° C. — 1 Juillet. O. En partie clair. Min. 14°, Max. 24° C.

10 Juillet. Un des flacons des cerisiers: liquide trouble, couvert d'une couche épaisse de moisissures avec une riche fructification; précipité volumineux, gris-jaunâtre. La couche de moisissures se composait principalement de Mucor stolonifer et en outre de Dematium pullulans, qui se montrait ici avec un mycélium tant grisâtre que vert sale. Le précipité contenait surtout une énorme quantité de microbactéries et de cellules de Dematium pullulans ressemblant à des Saccharomyces.

23 Juillet. Le second flacon des cericiers: liquide assez clair, entièrement couvert d'une couche de moisissures très épaisse, ondulée, blânchâtre dans sa plus grande étendue, mais vert-noirâtre sur les bords, contre les parois du vase, et formée en partie d'un mycélium indéterminé, en partie de Dematium pullulans. Précipité gris jaunâtre assez volumineux, renfermant, comme le liquide, un grand nombre de petites cellules de Dematium pullulans à gouttes huileuses relativement grandes, et ressemblant à des Saccharomyces.

10 Juillet. Un des flacons des groseillers épineux: liquide trouble, couvert d'une couche épaisse de moisissures avec une riche fructification de Mucor stolonifer; léger précipité, composé de flocons et de particules amorphes.

23 Juillet. Le second flacon des groseillers épineux: liquide trouble, couvert d'une couche très épaisse de moisissures, formée de Mucor stolonifer; précipité gris-jaunâtre assez léger, composé de vieux mycélium et de particules amorphes.

10 Juillet. Un des flacons du pavillon: à la surface du liquide, qui est assez clair, une épaisse couche de moisissures avec une riche fructification de Mucor stolonifer. Léger précipité composé de particules amorphes et de cellules ressemblant à des Saccharomyces (Dematium pullulans?).

23 Juillet. Le second flacon du pavillon: liquide trouble, couvert en partie d'une couche de moisissures verdâtres, jaunâtres et blanchâtres de Penicillium cladosporioides, en partie de masses mucilagineuses, composées d'une infinité de microbactéries et de Bacillus subtilis. Au milieu, une partie ouverte. Précipité volumineux

gris-jaunâtre renfermant, outre les mêmes bactéries, des Saccharomyces ellipsoideus, souvent avec un riche bourgeonnement, des cellules de levûre en forme de boudin qui pouvaient rappeler le Saccharomyces Pastorianus, et enfin de vieux restes de mycélium.

10 Juillet. 3me série d'expériences.

2 flacons, remplis aux $^2/_8$, furent placés sous les cerisiers et, au bout de 48 heures, remis dans le laboratoire, où la température était de 18° C. environ. Temps et température dans le jardin: 10 Juillet. O. Couvert, un peu de pluie. Min. 9°, Max. 21° C. — 11 Juillet. N-O. En partie clair. Min. 12°, Max. 21° C. — 12 Juillet. O. Couvert, fortes ondées. Min. 10°, Max. 25° C.

24 Juillet. Premier flacon: à la surface du liquide trouble, des moisissures blanchâtres et gris-bleuâtre et des masses mucilagineuses; précipité gris-jaunâtre assez volumineux. La couche de moisissures était formée de Penicillium glaucum en fructification, et d'un riche mycélium en partie de cette espèce, en partie de Dematium pullulans. Le liquide et le précipité contenaient de nombreuses cellules de D. pullulans ressemblant à des Saccharomyces, quelques tubes de mycélium et une foule de microbactéries, qui constituaient aussi les masses mucilagineuses.

5 Août. Second flacon: liquide trouble, en partie couvert d'une épaisse couche de moisissures blanchâtres de Penicillium glaucum en riche fructification; précipité gris-jaunâtre assez volumineux, formé de nombreuses microbactéries, de quelques Saccharomyces ellipsoideus, comme d'ordinaire avec bourgeonnement, et de quelques Bacillus subtilis.

24 Juillet. 4me série d'expériences.

4 flacons, remplis au $^1/_8$ du même liquide que les précédents mais soumis à une très forte ébullition, furent placés sous les cerisiers et dans le pavillon, 2 en chaque endroit, et, au bout de 72 heures, remis dans le laboratoire, dont la température était de 18° C. environ. Temps et température dans le jardin: 24 Juillet. N-O. Clair. Min. 11°, Max. 26° C. — 25 Juillet. S-O. Clair. beau temps. Min. 11°, Max. 25° C. — 26 Juillet. S. Clair, beau temps. Min. 10°, Max. 25° C. — 27 Juillet. S. En partie clair. Min. 12°, Max. 27° C.

5 Août. Un des flacons des cerisiers: liquide trouble, couvert de moisissures blanchâtres et gris-bleuâtre, formées de Penicillium glaucum en fructification et d'une masse mucilagineuse rougeâtre composée d'un saccharomyces rouge avec des ascospores.

Le second flacon des cerisiers: dans ses parties essentielles comme le précédent.

14 Août. Un des flacons du pavillon: surface couverte en partie de Penicillium glaucum en fructification; dans le précipité,

qui était assez léger, de nombreuses petites cellules de Dematium pullulans? et de Saccharomyces ellipsoideus.

Le second flacon du pavillon: liquide trouble, presque entièrement couvert d'Eurotium Aspergillus glaucus et de Penicillium glaucum, tous deux en riche fructification; il y avait du premier des conidies en grande abondance et de nombreux sporocarpes avec des ascospores. Le liquide renfermait une multitude de cellules ressemblant à des Saccharomyces et rappelant le Torula de Pasteur, Pl. III. Le précipité assez volumineux contenait les mêmes formes.

17 Août. 5me série d'expériences.

3 flacons, remplis aux $^2/_3$, furent placés dans le jardin, 1 sous les groseillers épineux, dont les fruits étaient mûrs, et les 2 autres sous la treille, qui portait des grappes encore vertes. Après une exposition de 60 heures, ils furent retirés et mis dans le thermostat à 21° C. environ. Temps et température dans le jardin: 17 Août. S-O. Fortes ondées. Min. 14°, Max. 23° C. — 18 Août. S. Beau temps. Min. 8°, Max. 24° C. — 19 Août. N-O. Clair, beau temps. Min. 14°, Max. 23° C. — 20 Août. N-O. Clair, beau temps. Min. 10°, Max. 22° C.

28 Août. Le flacon des groseillers épineux: à la surface du liquide trouble, une mince membrane grise. Précipité volumineux. La membrane se composait de Saccharomyces Mycoderma et de nombreuses microbactéries. Outre ces organismes, le précipité renfermait des Saccharomyces cerevisiæ et des Sacch. apiculatus; la physionomie de ces derniers répondait parfaitement aux formes de Pasteur représentées Fig. 11 b, pag. 70.

22 Août. Un des flacons de la treille: la surface du liquide trouble était couverte d'une masse jaunâtre, boursouflée de Zooglœa, contenant beaucoup de microbactéries, ainsi qu'un petit nombre de Bacillus subtilis et de Saccharomyces ellipsoideus. Le précipité, assez léger, contenait les mêmes organismes.

27 Août. Le second flacon de la treille: comme le précédent; seulement, à la surface du liquide, il y avait aussi des moisissures formées de Dematium pullulans et de Mucor Mucedo.

31 Août. 6me série d'expériences.

Un ballon Pasteur à deux cols, presque rempli de moût houblonné clair, bouilli et par suite stérilisé, fut mis en communication avec un aspirateur dans le laboratoire de physiologie, et l'air aspiré de manière à raser la surface du liquide. Au bout d'une $^1/_2$ heure, on le plaça dans le thermostat à 24° C. environ.

28 Sept. Liquide clair, brun; à sa surface, contre les parois du ballon, des moisissures grises, formées d'un mycélium touffu, feutré, cloisonné (certainement de Penicillium glaucum), avec des articles sou-

vent irrégulièrement renflés, mais sans fructification. Du reste pas d'organismes.

2 Septembre. 7me série d'expériences.

3 flacons, remplis aux 2/3, furent exposés dans le jardin, 1 sous la treille et 2 sous les pruniers, et, au bout de 48 heures, placés dans le laboratoire, dont la température était de 16—18° C. pendant la journée et de 12 environ pendant la nuit. Temps et température dans le jardin: 2 Sept. O. Clair, beau temps. Min. 13°, Max. 25° C. — 3 Sept. O. En majeure partie couvert. Min. 13°, Max. 21° C. — 4 Sept. N-O. En majeure partie clair, beau temps. Min. 15°, Max. 24° C.

12 Sept. Le flacon de la treille: la surface du liquide trouble était en partie couverte d'une couche de moisissures blanchâtres et gris-verdâtre; précipité assez volumineaux. La couche de moisissures se composait d'un mycélium vert-noirâtre (peut-être formé en partie de Dematium pullulans) et de Botrytis cinerea en fructification. Outre les parties tombées des moisissures, le précipité contenait une énorme quantité de microbactéries, quelques Saccharomyces ellipsoideus et de courts articles de Bacillus subtilis.

11 Sept. Un des flacons des pruniers: le liquide trouble était couvert sur les bords d'une couche de moisissures blanchâtres et gris-verdâtre; précipité assez volumineux. La couche de moisissures se composait de Dematium pullulans, de Cladosporium herbarum, de Botrytis cinerea et de Penicillium glaucum, tous en fructification. Outre les parties tombées de ces moisissures, le précipité contenait des Saccharomyces ellipsoideus et notamment une multitude de microbactéries, souvent semblables à des masses de Zooglœa, qui étaient incolores, allongées en forme de cylindre, avec des parties saillantes sphériques, droites ou sinueuses. Quelquefois elles ressemblaient aussi à des grappes de raisins..

Le second flacon des pruniers: comme le précédent; seulement, il n'y avait pas de Zooglœa et la couche supérieure du liquide renfermait un grand nombre de Bacillus subtilis.

10 Sept. 8me série d'expériences.

3 flacons, remplis aux 2/3, furent exposés à Valbjerg, 1 dans une pièce de la cave et 2 sur le balcon, et, au bout de 48 heures, mis dans le thermostat à 26° C. environ. Temps et température dans le jardin: 10 Sept. N-O. Clair, beau temps. Min. 12°, Max. 24° C. — 11 Sept. N-O. Clair, beau temps. Min 9°, Max. 22° C. — 12 Sept. S-O. En partie couvert. Min. 9°, Max. 24° C.

19 Sept. Flacon de la cave: liquide complètement trouble, avec une membrane épaisse, mucilagineuse, tenace, formée d'une énorme quantité de microbactéries logées dans le mucilage et de quelques fila-

ments très longs de Bacillus subtilis. Outre les mêmes organismes, le précipité contenait du mycélium de Mucor avec des articles renflés en forme de sphère.

30 Sept. Un des flacons du balcon: liquide clair, brun, couvert d'une couche très épaisse de moisissures blanchâtres et grises; précipité assez léger, composé de petites cellules appartenant certainement dans quelques cas au Saccharomyces apiculatus et dans d'autres au Dematium pullulans, et de parties tombées de la couche de moisissures. Celle-ci renfermait des Botrytis cinerea, des Penicillium glaucum et des Cladosporium herbarum, tous en fructification.

Le second flacon du balcon, liquide clair et brun, couvert d'une couche de moisissures très épaisse, blanchâtre, avec des taches grises et gris-bleuâtre; précipité assez léger, composé principalement de formes de Saccharomyces semblables à celles que M. Pasteur a représentées Pl. III à gauche, et en outre de parties tombées de la couche de moisissures. Celle-ci renfermait les mêmes organismes que dans le cas précédent, mais le Botrytis cinerea avait développé non-seulement des conidies, mais aussi des sclérotiums.

10 Sept 9me série d'expériences.

Un ballon de 300 cent. cub. vide d'air fut ouvert sous la treille, dont les raisins étaient en train de mûrir, puis refermé avec de la cire à coller et placé dans le laboratoire, dont la température était de 15—18° C. pendant la journée et de 9—12 pendant la nuit. Temps et température dans le jardin: 10 Sept. N-O. Clair, beau temps. Min. 12°, Max. 24° C.

1 Octobre. Liquide clair, brun, en apparence complètement inaltéré; le microscope y fit cependant découvrir quelques microbactéries, mais elles avaient un aspect jaunâtre, réfractaient assez fortement la lumière et faisaient l'effet d'être mortes. Elles se trouvaient donc certainement dans le moût bouilli du ballon avant que celui-ci fût ouvert.

13 Sept. 10me série d'experiences.

A travers le moût d'un grand flacon rempli au $^1/_4$ et placé sous la treille, on fit passer 8 litres d'air à l'aide d'un aspirateur. Temps et température dans le jardin: 13 Sept. S-O. En majeure partie clair. Min. 10°, Max. 21° C. Au bout d'une $^1/_2$ heure, le flacon fut mis dans le thermostat à 16° C. environ.

1 Octobre. Liquide assez clair, brun; à sa surface, deux touffes de moisissures blanchâtres et mouchetées de gris, formées de Penicillium glaucum. Le liquide et le précipité en contenaient des parties détachées avec de petites cellules de levûre (Saccharomyces ellipsoideus?).

19 Sept. 11me série d'expériences.

3 flacons, remplis aux ²/₃, furent exposés dans le jardin, 1 sous les pruniers, qui avaient des fruits mûrs, et 2 sous la treille, dont les raisins étaient presque mûrs, et, au bout du 48 heures, mis dans le thermostat à 26° C. environ. Temps et température dans le jardin: 19 Sept. S-O. En partie couvert. Min. 10°, Max. 16° C. — 20 Sept. S-O. Clair, beau temps. Min. 9°, Max. 16° C. — 21 Sept. O. Clair, beau temps. Min. 5°, Max. 16° C.

25 Sept. Le flacon des pruniers: liquide trouble, jaunâtre, moins foncé qu'à l'origine, et couvert d'une membrane assez épaisse, qui, dans sa plus grande étendue, était d'un blanc farinacé et grossièrement plissée, et dans une petite partie seulement, jaunâtre et finement plissée; précipité assez volumineux. La partie blanche était formée d'Oidium lactis et l'autre de Saccharomyces Mycoderma. Le précipité renfermait une énorme quantité de microbactéries, un assez grand nombre de cellules de Saccharomyces, notamment des formes voisines du Sacch. cerevisiæ, du Sacch. exiguus et du Sacch. Pastorianus, des Saccharomyces apiculatus et quelques filaments de Bacillus à articles courts. Après une culture de quelques jours sur un morceau de plâtre, toutes les cellules de levûre susmentionnées, à l'exception du Sacch. apiculatus, devinrent le siège de jolies formations d'ascospores. Que l'infection, dans ce cas, ait été si riche, cela s'explique peut-être en partie par la circonstance que les prunes furent récoltées précisément pendant l'exposition du flacon, car les arbres ayant été secoués à cette occasion, il en est sans doute résulté une pluie plus grande d'organismes, non-seulement des branches, des feuilles et des fruits, mais aussi des vêtements des travailleurs.

Un des flacons de la treille: à la surface du liquide, qui était assez trouble, une membrane gris-jaunâtre, plissée; précipité volumineux. La membrane était surtout formée de Saccharomyces Mycoderma, mais aussi de nombreuses microbactéries. Le précipité renfermait également une multitude de ces dernières et, en même temps, des parties détachées de la membrane et un assez grand nombre de Saccharomyces apiculatus.

1 Octobre. Le second flacon de la treille: liquide trouble, brunâtre, sans membrane; précipité volumineux, composé principalement de Saccharomyces apiculatus, et contenant en outre quelques exemplaires de Sacch. ellipsoideus, de microbactéries, de Mycoderma aceti et de Bacillus subtilis.

5 Octobre. 12me série d'expériences.

5 flacons, remplis aux ²/₃, furent exposés, 1 sous les cerisiers, 1 dans la cuisine de Valbjerg, 1 sur le balcon de cette villa, 1 sous la treille, dont les raisins étaient mûrs, et 1 dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg. En même temps 2 ballons vides d'air, l'un de 300 et l'autre de 200 cent. cub., furent

ouverts dans les vapeurs à odeur aigrelette qui s'échappaient d'une charge de drêche pendant qu'on la jetait à la pelle d'une voiture dans une autre, et, après avoir été renfermés avec de la cire à coller, déposés dans le thermostat à 27° C. environ. Les flacons furent retirés au bout de 72 heures et placés ensuite dans le thermostat à la même température. Temps et température dans le jardin: 5 Oct. O. En partie clair, beau temps. Min. 6°, Max. 10° C. — 6 Oct. S-O. Clair, beau temps. Min. 5°, Max. 18° C. — 7 Oct. S-E. Clair, beau temps, un peu de vent. Min. 10°, Max. 16° C. — 8 Oct. S. Clair, beau temps. Min. 11°, Max. 21° C.

18 Octobre. Le flacon des cerisiers: liquide brun, assez clair; précipité volumineux. A la surface, deux îlots de moisissures grises et blanchâtres, et des fragments de membrane, minces, presque roses. Ceux-ci étaient formés de cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces (Pl. II, Fig. 38—41), et les îlots, de Dematium pullulans. Le précipité renfermait un grand amas d'un mycélium indéterminé et de nombreuses cellules provenant des fragments de membrane et du Dematium pullulans.

22 Oct. Le flacon de la cuisine: liquide complètement trouble. jaunâtre, couvert en partie d'une membrane mince, blanchâtre, mate, en partie d'une touffe de moisissures gris-verdâtre; précipité volumineux. La membrane etait formée de microbactéries et de Sacch. Mycoderma, mélangés peut-être de Sacch. ellipsoideus: la touffe de moisissures se composait de Penicillium glaucum. Le précipité renfermait les organismes précédents, et le Sacch. Mycoderma s'y montrait avec des cellules allongées et des ramifications caractérisques en forme d'arbre.

Le flacon du balcon: liquide trouble, brunâtre, couvert d'une couche épaisse de moisissures grises, formée de Mucor stolonifer en fructification. Précipité assez léger, contenant des parties tombées de la couche de moisissures et quelques exemplaires de Sacch. apiculatus.

Le flacon de la cave de fermentation basse: à la surface du liquide trouble, quelques taches grises, mates et, contre les parois du vase, un anneau blanchâtre et une petite touffe feutrée blanche de moisissures; précipité volumineux. Les taches grises étaient formées de Sacch. Mycoderma, l'anneau, de Sacch. cerevisiæ, et les moisissures, d'un mycélium indéterminé. Parmi ces organismes, il y avait quelques microbactéries et quelques Bacillus subtilis. Le précipité contenait les mêmes formes à l'exception du mycélium; entre les cellules de Saccharomyces, il s'en trouvait plusieurs d'irrégulières, dont quelques-unes pouvaient rappeler le Sacch. Pastorianus.

Le flacon de la treille: liquide brunâtre, un peu trouble, sans membrane; contre les parois du vase, quelques touffes de moisissures; précipité volumineux, ne renfermant que des cellules de Dematium pullulans.

26 Oct. Le ballon de 300 cent. cub.: liquide trouble, jaunâtre, couvert d'une membrane grise, épaisse, tenace, parsemée de taches claires, légèrement plissée; précipité peu abondant. La mem-

brane se composait de microbactéries et de longs filaments, dont les premières semblaient s'être développées; elles étaient disposées en grandes mailles et formaient une infinité de réseaux; l'eau paraissait être sans action sur la membrane. Le précipité contenait des particules qui s'en étaient détachées. Forte réaction acide avec le papier de tournesol.

Le ballon de 200 cent. cubes: liquide complètement clair, brun, inaltéré. Les recherches avec le ballons exposés aux vapeurs de la drêche ont été faites sur l'invitation de M. Kogsbølle et seront continuées.

1 Novembre. 13me série d'expériences.

7 flacons, remplis aux $^2/_3$, furent exposés, 1 sous les cerisiers, 2 sous la treille, dont presque tous les raisins avaient été cueillis, 2 dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg, 1 dans la cuisine de Valbjerg et 1 sur le balcon de cette villa, et, au bout de 72 heures, déposés dans le thermostat à 25° C. environ. Temps et température dans le jardin: 1 Novbr. N. Clair, beau temps. Min. 3°, Max. 11° C. — 2 Novbr. S. Ondées avec grêle. Min. 1°, Max. 11° C. — 3 Novbr. N-O. Clair, beau temps. Min. 0°5, Max. 11° C. — 4 Novbr. N. Clair, beau temps. Min. 1°, Max. 7° C.

14 Novbr. Un des flacons de la cave de fermentation basse: liquide trouble, jaunâtre, avec un précipité volumineux et une membrane jaune-blanchâtre principalement formée de spores faiblement germantes d'un Mucor (Reess, Pl. IV, Fig. 5), qui étaient accompagnées de quelques cellules de levûre rappelant le Sacch. ellipsoideus et de microbactéries. Le précipité se composait surtout de Sacch. cerevisiæ, et renfermait en outre de nombreuses microbactéries, ainsi que quelques-uns des Mucor germants susmentionnés.

Le second flacon de la cave de fermentation basse: liquide trouble, jaunâtre, avec un précipité volumineux et une membrane gris-blanchâtre, feutrée, sur les bords de laquelle quelques croûtes gris-verdâtre composées d'un mycélium vert-brunâtre cloisonné, à parois épaisses, mais indéterminé; la couche feutrée était formée de Mucor Mucedo. A la surface du liquide, des Sacch. Mycoderma, ellipsoideus et cerevisiæ et des microbactéries. Le précipité renfermait les mêmes organismes, mais surtout des Sacch. cerevisiæ.

16 Novbr. Un des flacons de la treille: liquide brunâtre, un peu trouble, entièrement couvert d'une couche de moisissures épaisse, velue, formée de Mucor stolonifer en fructification. Outre des parties détachées de la couche de moisissures, le précipité assez léger contenait des Sacch. apiculatus.

Le second flacon de la treille: une touffe épaisse et velue de moisissures, formée de Mucor stolonifer en fructification, adhérait aux parois du vase et s'étendait sur une petite partie de la surface du liquide trouble et brunâtre. Le précipité assez volumineux se composait, comme dans le cas précédent, de parties détachées des

moisissures et surtout de Sacch. apiculatus. Ce dernier organisme s'y montrait dans toutes les grandeurs, et quelques exemplaires étaient si petits qu'un examen superficiel pouvait bien les faire prendre pour des microbactéries.

Le flacon du balcon: la surface du liquide trouble était en partie couverte d'un anneau de moisissures blanchâtre et grisâtre, velu, formé d'un réseau serré de filaments de mycélium gris, ramifiés, cloisonnés. Le précipité assez volumineux renfermait une multitude de microbactéries et de Bacillus subtilis.

Le flacon des cerisiers: la surface du liquide jaunâtre fortement décoloré était couverte de masses mucilagineuses et de touffes de moisissures blanchâtres et gris-bleuâtre; celles-ci se composaient principalement de Penicillium glaucum et en outre de Dematium pullulans; celles-là étaient formées de microbactéries et de Bacillus subtilis, dont il y avait beaucoup de filaments minces et très longs. Le précipité renfermait les mèmes organismes, mais surtout des microbactéries et des Bacillus.

Le flacon de la cuisine: A la surface du liquide trouble et brunâtre, quelques touffes de moisissures blanchâtres et gris-bleuâtre, formées de Penicillium glaucum en fructification. Le précipité assez volumineux se composait presque exclusivement de Sacch. apiculatus.

7 Novembre. 14me série d'expériences.

4 flacons, remplis aux $^2/_3$, furent exposés dans le jardin, 1 sous les cerisiers, 1 sous la treille, qui conservait encore quelques grappes et une grande partie de son feuillage, et 2 sur le balcon. Lorsqu'on les rentra 72 heures après pour les déposer dans le thermostat à 25° C., il gelait et deux d'entre eux étaient en partie couverts d'une pellicule de glace. Temps et température dans le jardin: 7 Novbr. S-O et plus tard N. Couvert et un peu de pluie. Min. 0°, Max. 5° C. — 8 Novbr. N. Couvert et un peu de pluie. Min. — 1°, Max. 8° C. — 9 Novbr. N. Clair, beau temps. Min. 2°, Max. 9° C. — 10 Novbr. S-O. Couvert, pluie le soir. Min. — 1°, Max. 8° C.

27 Novbr. Un des flacons du balcon: liquide trouble, brun, donnant une réaction acide avec le papier de tournesol; la surface en était couverte au milieu d'une membrane mince, rose, où se trouvait logée une petite touffe de moisissures brun-grisâtre. Le long des bords, contre le verre, s'était formé un anneau mucilagineux, rouge, jaunâtre, et au-dessus, sur le verre même, il y avait une végétation de moisissures gris-verdâtre. Précipité gris jaunâtre assez volumineux. La membrane rouge se composait de masses ressemblant à des Zooglœa, et formées de Bacillus ruber. L'anneau mucilagineux était formé en partie du même organisme, en partie d'un mycélium gris et vert sale, ramifié, cloisonné, dont les cellules étaient assez souvent sphériques ou renflées irrégulièrement, et qui appartenait sans doute à la même espèce que la végétation de moisissures, à savoir au Cladosporium herbarum. Le précipité renfermait les mêmes organismes.

Le second flacon du balcon: liquide jaunâtre, complètement trouble, avec une couche épaisse de moisissures gris-bleuâtre et un

précipité assez volumineux. Cette couche se composait principalement de Penicillium glaucum et en outre de Dematium pullulans; le précipité, outre les parties détachées des moisissures, renfermait une multitude de microbactéries et quelques Bacillus subtilis.

Le flacon de la treille: liquide brun foncé, assez trouble, avec de petites touffes de moisissures blanchâtres et jaunâtres; précipité volumineux. Les moisissures se composaient en partie de Penicillium glaucum, en partie de Dematium pullulans, dont les cellules de mycélium étaient en train de se faire des parois épaisses et jaunâtres. Le liquide et le précipité, outre les parties détachées des moisissures, renfermaient principalement une multitude de Sacch. apiculatus, surtout des formes allongées (Reess, Pl. III, Fig. 12), et des cellules de Dematium ressemblant à des Saccharomyces y étaient également assez nombreuses.

Le flacon des cerisiers: liquide assez clair, en majeure partie couvert d'une couche de moisissures gris-bleuâtre, blanchâtre et vert-brunâtre; précipité volumineux. La couche de moisissures était formé de Penicillium glaucum et de Dematium pullulans, et le précipité, d'une ènorme quantité de microbactéries, de quelques Bacillus subtilis et de particules tombées des moisissures.

7 Décembre. 15me série d'expériences.

6 flacons, remplis aux $^2/_3$, furent exposés, 1 sur le balcon, 1 sous la treille, 1 sous les cerisiers, 1 sous les groseillers épineux et 2 dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg, et, au bout de 72 heures, déposés dans le thermostat à 25^{0} C. Il y avait alors de la glace dans tous les flacons, excepté dans ceux de la treille et de la cave. Temps et température dans le jardin: 7 Décbr. S-O. En majeure partie couvert, neige dans la matinée. Min. — 1^{0}, Max. 2^{0} C. — 8 Décbr. N. Clair, beau temps. Min. — 7^{0}, Max. 2^{0} C. — 9 Décbr. S-E et N-E. Couvert, neige. Min. — 2^{0}, Max. 2^{0} C. — 10 Décbr. N-E. Couvert. Min. 0^{0}, Max. 2^{0} C.

30 Décbr. Le flacon du balcon: liquide brûnâtre, assez clair, couvert d'une couche de moisissures épaisse, grisâtre, velue, qui, contre les parois du vase, était d'un jaune de chrome presque pur; précipité assez léger. La couche de moisissures était formée de Mucor stolonifer et de Penicillium glaucum avec une riche fructification, et les parties jaune de chrome d'un mycélium jaune, ramifié, cloisonné, appartenant sans doute a la dernière espéce (en semant directement du Penicillium glaucum dans du moût, j'ai constaté antérieurement que le mycélium qui s'en développe peut devenir jaune). Le précipité consistait en parties tombées des moisissures.

Le flacon de la treille: liquide brunâtre, assez clair, couvert d'une couche de moisissures épaisse, velue, grisâtre, mouchetée de noir et formée de Mucor stolonifer en riche fructification; précipité léger, composé de parties tombées de la couche de moisissures.

Le flacon des cerisiers: liquide brunâtre, assez clair, couvert d'une couche de moisissures gris-jaûnâtre, assez épaisse, formée de

Penicillium cladosporioides; précipité assez léger, renfermant des parties tombées de la couche de moisissures et quelques microbactéries.

31 Décbr. Le flacon des groseillers épineux: liquide brunâtre, assez clair, en partie couvert d'une couche de moisissures assez épaisse, ondulée, blanchâtre et gris-bleuâtre, formée de Penicillium glaucum; précipité assez volumineux composé de parties tombées de la couche de moisissures.

Un des flacons de la cave de fermentation basse: liquide jaunâtre, assez trouble; à sa surface, de minces fragments de membrane formés de nombreuses microbactéries et de quelques articles courts de Bacillus subtilis, mélangés d'un petit nombre de cellules de levûre. Précipité volumineux, en majeure partie composé de Sacch. cerevisiæ, mais renfermant aussi quelques microbactéries et quelques Bacillus subtilis.

Le second flacon de la cave de fermentation basse: liquide jaunâtre, assez trouble, couvert d'une couche de moisissures épaisse, velue, bleu-grisâtre, formée de Penicillium glaucum; précipité volumineux renfermant, outre les parties tombées de la couche de moisissures, de nombreuses microbactéries et une grande quantité de cellules de levûre identiques sans doute avec des formes types du Saccharomyces cerevisiæ; parmi ces dernières, il y en avait cependant plusieurs qui rappelaient beaucoup les dessins que M. Pasteur a donnés du Saccharomyces Pastorianus.

Résultats.

En examinant les analyses qui précèdent, on verra que les expériences de chaque série diffèrent plus ou moins entre elles quant à leurs résultats. Prenons-nous, par exemple, celles du jardin, nous trouvons que les flacons exposés au même temps, même en des points assez voisins, produisent une végétation différente. C'est ainsi que les germes de l'air, le 29 Juin—1er Juillet, n'étaient pas de la même espèce sous les cerisiers que sous les groseillers épineux et dans le pavillon. Les autres séries d'expériences donnent des résultats analogues. Bien plus, j'ai constaté que deux flacons placés l'un à côté de l'autre peuvent, dans le même temps, recevoir une infection différente. Nous apprenons en un mot que les organismes microscopiques répandus au même moment dans l'air sur divers points sont le plus souvent d'éspèce différente, même si les points observés sont proches les uns des autres. Que, sous le rapport de la quantité, il puisse aussi y avoir des différences, c'est ce que montrent surtout les expériences avec les ballons vides d'air et fermés à la lampe. Mes recherches ont donc abouti au même résultat que celles de M. Pasteur et de M. Tyndall.

C'est une opinion assez commune que les Saccharomyces se trouvent partout répandus également et en grande quantité dans les poussières de l'air. Les analyses que j'ai communiquées prouvent que les

choses ne se passent pas ainsi, et elles confirment également l'exactitude de l'opinion émise par M. Pasteur, à savoir que ces organismes y sont même relativement assez rares. Des 2 flacons exposés à l'extrémité du jardin de Carlsberg, aucun, par exemple, ne renfermait des formes de Saccharomyces, et, parmi les 4 des groseillers épineux, les 10 des cerisiers, les 10 de la treille et les 7 du balcon, on n'en a trouvé respectivement que dans 1, 4, 8 et 3. Aucun Saccharomyces ne s'est non plus montré dans un ballon Pasteur presque rempli de moût houblonné clair, où, à l'aide d'un aspirateur, j'avais, pendant 1/2 heure environ, fait passer sur la surface du liquide de l'air aspiré du laboratoire de physiologie, et il en est de même des ballons vides d'air qui ont été ouverts sous la treille et au-dessus de la drêche. Ce qui vient d'être dit des Saccharomyces s'applique en général aussi aux bactéries. Il n'y en avait point dans les 2 flacons exposés à l'extrémité du jardin, ni dans l'un des 2 ballons vides d'air ouverts au-dessus de la drêche, ni certainement non plus dans celui que j'ai ouvert sous la treille, et tel est aussi le cas pour le ballon Pasteur à deux cols mentionné plus haut et le grand flacon placé sous la treille, à travers le liquide duquel j'avais fait passer 8 litres d'air à l'aide d'un aspirateur. Parmi les 4 flacons des groseillers épineux, les 7 du balcon, les 10 des cerisiers et les 10 de la treille, il n'y en a respectivement, que 1, 3, 6 et 5 dans lesquels j'ai constaté la présence des bactéries.

Il n'est pas non plus exact, comme le pensent quelques savants, que l'air ordinaire soit entièrement exempt de bactéries vivantes; il peut l'être en un point isolé, mais ne l'est pas constamment. Si l'on en prend un grand nombre d'échantillons, on en trouvera toujours quelques-uns qui renferment des bactéries vivantes. Mais ces organismes, de même que les Saccharomyces, sont loin d'être aussi fréquents dans les poussières de l'air que les moisissures.

La circonstance que les échantillons du jardin contenaient des organismes qui ne se trouvaient pas dans le laboratoire ni dans les caves de fermentation, fournit une preuve de l'exactitude de la théorie de M. Pasteur, en même temps qu'elle indique que quelques-unes au moins de mes expériences ont été exécutées de manière à permettre d'en tirer des conclusions. De telles recherches, même si elles sont conduites avec l'habileté d'un Pasteur, sont toujours sujettes à des accidents de diverse nature; aussi faut-il en faire un grand nombre et exigent-elles de l'expérimentateur beaucoup de soins et de précautions. Quoique celles que j'ai entreprises comprennent une des plus grandes séries d'expériences suivies qui aient été publiées jusqu'ici sur ce sujet, je ne pense pas cependant qu'on puisse en toute sûreté en déduire des principes généraux. C'est aussi mon dessein de poursuivre ce travail, et les résultats que je communique aujourd'hui doivent donc seulement être considérés comme donnant une solution provisoire, qui sera peut-être modifiée dans un sens ou dans l'autre à mesure que les observations deviendront plus nombreuses et plus complètes.

Dans le cours des expériences, M. Jacobsen m'a posé les questions suivantes: l'air de dessous les différents arbres fruitiers et arbrisseaux du jardin renferme-t-il des organismes spéciaux, déterminés? —

Trouve-t-on dans l'air des Saccharomyces et d'autres organismes microscopiques après que la gelée a commencé?

Relativement à la première question, mes analyses montrent que les mêmes organismes peuvent apparaître dans des endroits différents, et qu'à une espèce déterminée d'arbres fruitiers ne correspond pas une flore spéciale. Il est vrai que les Saccharomyces rouges ont seulement été trouvés sous les cerisiers, les Eurot. Aspergillus glaucus dans le pavillon et les Bacil. ruber autour du balcon, mais ces cas doivent certainement être considérés comme accidentels. D'ailleurs, pour résoudre la question avec quelque certitude, il faudrait que les arbres et les arbrisseaux dont il s'agit fussent maintenus pendant longtemps isolés les uns des autres.

La 14me et la 15me série d'expériences ont été entreprises spécialement en vue de la seconde question. Dans la première de ces séries, les flacons ont été exposés du 7 au 10 Novembre sous les cerisiers, sous la treille et sur le balcon. L'hiver avait bien commencé, et lorsque je les rentrai, il gelait et deux d'entre eux étaient en partie recouverts d'une pellicule de glace. Pendant leur exposition, la température minimum était de — 1^{0} et le maximum de 9^{0} C. En fait de Saccharomyces, il n'y en avait pas d'autre que le Sacch. apiculatus, et je l'observai seulement dans le flacon de la treille. Dans la 15me série d'expériences, les flacons restèrent exposés du 7 au 10 Décembre non-seulement dans les endroits mentionnés plus haut, mais aussi sous les groseillers épineux. L'hiver était dévenu plus rude, min. — 7^{0}, max. 2^{0} C., et il y avait de la glace dans quelques-uns des flacons. Je ne trouvai plus trace de Saccharomyces; le Sacch apiculatus avait en effet disparu, mais les microbactéries et trois espèces de moisissures: le Penicil. glaucum, le Mucor stolonifer et le Penicil. cladosporioides, étaient présents comme à l'ordinaire et ne semblaient pas du tout s'être ressentis de la gelée.

Le Sacch. apiculatus est donc le Saccharomyces qui s'est maintenu le plus longtemps à l'air libre; il a fait sa première apparition au mois d'Août, et depuis lors, de même que le Sacch. ellipsoideus et le Sacch. Mycoderma, a toujours figuré parmi les Saccharomyces les plus fréquents; cependant on ne l'a jamais rencontré dans les caves de fermentation, où le Sacch. cerevisiæ était le plus commun. En fait de bactéries, j'ai le plus souvent trouvé les microbactéries et le Bacillus subtilis. Les moisissures les plus répandues étaient le Penicil. glaucum, le Mucor stolonifer et le Demat. pullulans, mais ces deux derniers n'ont jamais été observés dans les caves de fermentation.

Outre l'intéressante découverte des Saccharomyces colorés en rouge, dont je parlerai plus loin avec détail, on peut encore mentionner le Bacil. rouge, qui, en Novembre, a sans doute été apporté avec la neige dans le moût exposé. Le Botrytis cinerea, qui passe pour être la cause d'une des maladies du vin, laquelle consiste en ce que ce liquide prend une odeur et un goût de fumée, a également pour nous un intérêt particulier.

En résumant ce qui précède, nous voyons que l'air, à Carlsberg et tout autour, a été rempli l'année dernière de nuages d'organismes divers invisibles à l'œil nu. Ces nuages n'ont certainement pas cessé

de flotter d'un côté ou de l'autre, mais ils étaient séparés par des intervalles où il n'y avait ni spores ni germes. Ils renfermaient au même moment des espèces différentes, même en des points très rapprochés; les bactéries et les Saccharomyces ne s'y montraient pas toujours, mais les spores des moisissures y étaient plus fréquentes. Plusieurs espèces flottaient non-seulement à l'air libre, mais aussi dans les appartemens et les caves de fermentation; d'autres ne se rencontraient qu'au dehors. En plein air, le contenu des nuages présentait quelques différences suivant les différentes saisons de l'année, mais variait à peine suivant les localités. Les Saccharomyces disparurent dans le jardin au commencement de l'hiver; le Sacch. apiculatus est celui qui s'y est maintenu le plus longtemps; mais lorsque le froid, en Décembre, est devenu plus vif, on n'y a plus trouvé que quelques moisissures et des microbactéries.

---

2. Sur les membranes.

J'ai commencé mes études sur les membranes qui prennent naissance à la surface de la bière, surtout afin de faire connaissance avec les organismes qui se montrent dans ce liquide, travail pour lequel ces formations m'ont fourni d'excellents matériaux; mais, à cette occasion, j'ai aussi été amené à me livrer à d'autres recherches, comme par exemple, sur le mode de production des membranes, sur l'influence de la température, sur le développement des organismes qui les constituent et sur les combats qu'ils se livrent entre eux pour l'existence. Comme ces observations fournissent aussi entre autres des contributions à la biologie des organismes dont il s'agit, je les ai notées avec soin, et j'en donne ci-après un court extrait qui comprend les exemples les plus caractéristiques, en l'accompagnant de quelques remarques générales. Les liquides employés ont été versés dans des bocaux en verre de la même grandeur, et placés immédiatement après dans le thermostat.

Bière de Jutland à fermentation haute.

(Alcool, 0,5% env.; Extrait, 4—5%).

32—33° C.	1 jour,	Oid. lactis.
— -	1 —	id.
— -	4 —	Microbactéries, Spiril. tenue.
— -	3 —	Microbactéries, Bacill. subtilis.
19—20° -	2 —	Oid. lactis, Sacch. Mycoderma.
— -	2 —	Oid. lactis.
19—21° -	5 —	Microbactéries, Spiril. tenue.
19—20° -	2 —	Sacch. Mycoderma.
9—10° -	3 —	id.

9—10° C.	4 jours.	Oid. lactis, Sacch. Mycoderma.
9—11° -	14 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.
9—10° -	6 —	Sacch. Mycoderma.
2—3° -	7 —	id.
— -	22 —	id.
2—4° -	30 —	id.
2—3° -	28 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.

Dans ce tableau et les suivants, la première colonne indique les températures de différentes chambres du thermostat, tandis que la deuxième désigne le temps pendant lequel les liquides soumis à l'expérience ont été exposés à la température inscrite à gauche avant qu'il se formât une membrane à leur surface, et la trosième, le ou les organismes qui prédominent dans ces conditions. Le tableau précédent montre que la membrane s'est formée le plus rapidement dans les cas où l'Oidium lactis était prédominant, à savoir au bout de 1—2 jours. Une température de 19 à 33° C. convient bien à cette espèce, mais les microbactéries, le Bacillus subtilis et le Spirillum tenue peuvent aussi y prospérer. Le Saccharomyces Mycoderma a surtout le dessus aux basses températures, et il peut se développer dans des limites comprises entre 2 et 33° C.; dans la glacière, à 2°—4° C., se développe le mycélium dont M. Cienkowski a le premier donné une description exacte.

Bière de Sélande à fermentation haute.

(Alcool, 0,6%; Extrait 5%).

30—32° C.	6 jours.	Microbactéries.	
21—23° -	11 —	Microbactéries,	Sacch Mycoderma.
10° -	21 —	id.	id.
5—7° -	29 —	id.	id.
3° -	36 —	Microbactéries.	

Dans cette série d'expériences, ce sont surtout les microbactéries qui l'ont emporté, et les membranes ont par suite un aspect plus ou moins brillant et mucilagineux. Comme à l'ordinaire, leur développement a été d'autant plus rapide que la température était plus élevée, et les taches grises, mates qu'elles présentaient étaient formées de Sacch. Mycoderma.

Bière blanche de Copenhague.

(Alcool, 0,8%; Extrait, 9%),

42° C.	3 jours.	Myc. Pasteurianum.
— -	2 —	id.
33° -	1 —	id.
33° -	2 —	Myc. Pasteurianum, microbactéries.
26° -	2 —	Myc. Pasteurianum.
— -	2 —	Microbactéries, Myc. Pasteurianum.
21° -	3 —	Myc. Pasteurianum.

21° C.	2 jours.	Microbactéries, Myc. Pasteurianum, Sacch. Mycoderma.
15° -	4 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.
12° -	6 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
— -	6 —	Myc. Pasteurianum, Sacch. Mycoderma.
10° -	6 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
— -	6 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.
5° -	12 —	Sacch. Mycoderma.
— -	18 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.

A 42° C. le Myc. Pasteurianum était donc maître souverain; à 33° et au-dessous, il a commencé à partager l'empire avec les microbactéries. C'est seulement à 21° que le Sacch. Mycoderma est entré en scène comme un rival redoutable, et la lutte s'est alors engagée entre ces trois formes, pour se concentrer à la fin entre le Sacch. Mycoderma et les microbactéries, le Myc. Pasteurianum ayant été obligé de céder la place aux deux autres, à mesure que la température se rapprochait de zéro. La membrane s'est formée le plus rapidement à 33° C., à savoir dans l'espace d'un jour, et elle se composait alors essentiellement de Myc. Pasteurianum. Aux températures plus basses elle exigeait un temps plus long, 4 jours à 15°, 6 à 12°—10° et 12 ou 18 à 5° C. Les membranes marbrées et plissées où le Sacch. Mycoderma n'entre pas se distinguent nettement, même à l'œil nu, de celles où se développent les champs mats ou les plis épais qui sont caractéristiques de cette espèce.

Double bière douce de Copenhague.

(Alcool. 2%; Extrait, 16%).

42° C.	3 jours.	Myc. Pasteurianum.
— -	2 —	id.
33° -	2 —	id.
— -	2 —	id.
26° -	2 —	id.
— -	2 —	Sacch. Mycoderma.
21° -	3 —	Myc. Pasteurianum.
— -	2 —	Sacch. Mycoderma.
15° -	4 —	id.
12° -	7 —	Microbactéries.
— -	4 —	Sacch. Mycoderma.
10° -	10 —	Microbactéries.
— -	7 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.
5° -	17 —	Sacch. Mycoderma.
— -	14 —	Sacch. Mycoderma, microbactéries.

Le Mycoderma Pasteurianum, dans cette série d'expériences, domine donc aussi complètement aux températures les plus élevées employées ici. 42 et 33° C., et, de même que dans le cas précédent avec la bière blanche, cette espèce, à mesure que la température a baissé, a dû faire place au Sacch. Mycoderma et aux microbactéries, et a finalement été chassée par ces deux organismes et notamment

par le premier. Les remarques générales que j'ai faites sur la série précédente relativement à l'influence de la température sur le temps qu'exige la formation des membranes, s'appliquent également à cette série et aux suivantes, et il en est de même des remarques relatives à l'aspect des membranes.

Double Brown Stout de Carlsberg.

(Alcool, 4,3% env.; Extrait, 8,8%),

42° C.	6 jours.	Pas de membrane; liquide évaporé jusqu'a consistance sirupeuse.
— -	7 —	Pas de membrane; liquide évaporé jusqu'a consistance sirupeuse.
36° -	5 —	Microbactéries.
35°—36° -	5 —	id.
33° -	5 —	id.
26° -	7 —	id.
— -	7 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
21° -	5 —	Microbactéries.
— -	8 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
16° -	5 —	Microbactéries.
17° -	6 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
10° -	9 —	Microbactéries.
11° -	9 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
6° -	16 —	id. id.
5°—7° -	15 —	id. id.
2° -	58 —	id. id.
2°—3° -	58 —	id. id.

A 42° C. il ne s'est donc pas formé de membrane, et aux températures comprises entre 36° et 26° C. les microbactéries ont entièrement dominé; ensuite elles ont dû céder l'empire au Sacch. Mycoderma.

Bière de garde de Carlsberg.

(Alcool, 4%; Extrait, 5%).

42° C.	10 jours.	Pas de membrane; la plus grande partie du liquide évaporée.
33° -	3 —	Myc. aceti.
25°—26° -	4 —	Microbactéries.
18° -	5 —	id.
10° -	11 —	Microbactéries, Sacch. Mycoderma.
2°—3° -	30 —	Sacch. Mycoderma.

A 42° C. il n'y avait donc pas de membrane; à 33° elle se composait exclusivement de Myc. aceti, et c'est à cette température qu'elle s'est formée le plus vite, à savoir au bout de 3 jours. Remarquons en outre que le liquide sentait le vinaigre, qu'il était clair et avait conservé sa belle couleur brune. Entre 26 et 18° C.,

il était entièrement envahi par les microbactéries; mais, à mesure que la température a baissé, elles ont dû partager la place avec le Sacch. Mycoderma. Avec les microbactéries, le liquide était décoloré, jaunâtre et trouble.

Carlsberg Beer.

Alcool, 5%; Extrait, 6,2%).

42° C.	10 jours.	Pas de membrane; la majeure partie du liquide évaporée.
33° -	6 —	Microbactéries, Myc. aceti.
25°—26° -	6 —	Microbactéries.
18° -	5 —	Sacch. Mycoderma.
10° -	11 —	id.
2°—3° -	30 —	Mycélium incolore, ramifié, cloisonné, sans fructification.

De même que dans les cas précédents, il ne s'est pas formé de membrane à 42° C. Le Myc. aceti s'est également montré ici à 33°, mais conjointement avec les microbactéries, et le liquide était aussi un peu trouble et jaunâtre. Les microbactéries étaient maîtresses du terrain à 25° C., mais à mesure que la température a baissé, elles ont dû céder la place au Sacch. Mycoderma.

---

1. C'est donc aux températures élevées que les membranes se sont le plus rapidement formées; mais elles ont souvent fait défaut à 42° C. Dans les cas où la surface en était grisâtre et mate, elles se composaient exclusivement ou en majeure partie de Sacch. Mycoderma, entre les cellules duquel étaient logées de nombreuses bulles d'air. Lorsqu'elles avaient un aspect brillant, mucilagineux, elles étaient essentiellement formées de microbactéries, et le liquide était alors trouble, décoloré, jaunâtre (tel est du moins le cas pour la bière de garde de Carlsberg et le Carlsberg Beer, ainsi que pour le moût employé dans eette brasserie). Lorsque les membranes de ces deux espèce de bière se composaient exclusivement de Myc. aceti, de Myc. Pasteurianum ou de Sacch. Mycoderma, les liquides sous-jacents conservaient toujours leur belle couleur brune et restaient clairs. M. Pasteur a observé quelque chose d'analogue avec le moût qui était recouvert de Mucor.

2. Les membranes marbrées présentaient très souvent des champs mats entremêlés de figures mucilagineuses en forme de flammes; le tout ressemblait assez à du marbre diversement coloré. Comme on pouvait s'y attendre, les champs étaient formès de Sacch. Mycoderma et les figures, de microbactéries; dans les points où les deux organismes rivaux se rencontraient, ils étaient ordinairement entremêlés, mais plus loin on trouvait souvent une végétation presque complètement pure.

3. Parmi les faits qu'ont mis en lumière les recherches qui nous occupent, je citerai notamment cette observation que la bière de garde de Carlsberg, dans un bocal ouvert à 33° C., donne régulière-

ment une végétation complètement ou presque complètement pure de Myc. aceti[1]). Les températures de 30—34° C. sont en général très favorables aux deux espèces de Mycoderma. Dans les expériences avec ces organismes, les renseignements qui précèdent sont très utiles pour obtenir les cultures pures dont on a besoin. Ils ne supportent pas bien les basses températures voisines de zéro.

4. Le Sacch. Mycoderma est en général ici maître du terrain et a à lutter contre les microbactéries; dans l'armoire-glacière, il se montre souvent avec son mycélium.

5. A mesure que la température augmente, les microbactéries prennent de plus en plus le dessus, et le Sacch. Mycoderma est obligé de battre en retraite; il peut bien vivre et se développer entre 2 et 33° C., mais au-dessus de 26°, il est incapable de tenir tête à ses rivaux. J'aitrouvé que la température de 15° C. lui était en général favorable.

6. Les microbactéries, le Bacillus subtilis et le Spirillum tenue aiment une température élevée, par ex. de 33° C., mais les premières, comme nous l'avons vu, peuvent aussi donner une vigoureuse végétation dans le voisinage de zéro.

---

3. Organismes que j'ai observés dans la bière et dans le moût.

1. Eurotium Aspergillus glaucus de Bary.
2. Penicillium glaucum Link.
3. — cladosporioides Fres.
4. Mucor racemosus Fres.
5. — Mucedo L.
6. — stolonifer Ehrb.
7. Botrytis cinerea Pers.
8. Cladosporium herbarum Link.
9. Dematium pullulans de Bary.
10. Oidium lactis Fres. (Pl. I. fig. 1—19).
11. Chalara Mycoderma Cienk. (Pl. I. fig. 20—28).
12. Saccharomyces cerevisiæ Meyen. (Pl. I. fig. 29—30).

---

[1]) J'ai fait la même expérience avec d'autres espèces de bières basses contenant la même quantité d'alcool. Un léger changement dans la composition ordinaire de ces bières, fût-il même si insignifiant que je ne pouvais le constater autrement, suffisait cependant parfois pour troubler cette végétation, de sorte qu'elle ne se produisait pas du tout, ou du moins devenait impure.

13. Saccharomyces ellipsoideus Reess.
14. — exiguus. Rees.
15. — Pastorianus. Reess.
16. — Mycoderma. Rees.
(Pl. I. fig. 31).
17. — apiculatus. Reess.
18. — glutinis (Fres.) Cohn.
(Pl. II. fig. 42—44).
19. Spirillum tenue Ehrb.
(Pl. II. fig. 56—57).
20. Bacillus ruber Frank.
21. J'ai trouvé un Bacillus jaune, ressemblant au précédent, dans un bocal contenant du moût houblonné et recouvert d'une plaque de verre, qui avait séjourné plusieurs jours dans le laboratoire. A la surface du liquide il y avait des masses jaunâtres, mucilagineuses, et contre les parois du verre, des formations analogues, mais fortement colorées en jaune de chrome, où se trouvait le Bacillus en question. De même que le précédent, lorsqu'on le regardait isolément, il avait un reflet gris-bleuâtre; mais la couleur jaune reparaissait là où il y en avait plusieurs réunis. C'est le second Bacillus à pigment qui a été observé; mais j'attendrai pour en fixer le nom systématique d'avoir eu l'occasion de le soumettre à une étude plus approfondie.

22. Bacillus subtilis (Ehrb.) Cohn.
(Pl. II, Fig. 58—59).

23. Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur.
(Pl. II, Fig. 60—70).

Dans ses „Études sur le vinaigre", 1868, p. 11, M. Pasteur dit que Persoon, en 1822, a désigné l'espèce décrite ici sous le nom de Mycoderma aceti. C'est sans doute une erreur, car je n'ai trouvé ce nom nulle part dans les ouvrages de Persoon. C'est ce botaniste qui a fondé le genre Mycoderma, et, dans sa „Mycologia europæa" Sectio prima, 1822, p. 96, il décrit le Mycoderma mesentericum, qui semble être de très près synonyme avec le Myc. aceti ou le Sacch. Mycoderma; peut-être est-ce ce nom que M. Pasteur a en vue. — Comme synonyme est cité avec plus de raison l'Ulvina aceti Kützing: Unters. über die Hefe und Essigmutter (Journal für prakt. Chemie, 1837, II Vol., p. 389—391, Pl. II, Fig. VI—VIII). — Pasteur: Études sur la bière, 1876, Pl. I, Nr. 5.

24. Mycoderma Pasteurianum nov. sp.
(Pl. II, Fig. 60—70).

Il se distingue nettement du précédent en ce qu'il n'est pas coloré en jaune mais en bleu par l'iode; du reste ils sont si identiques au point de vue morphologique, que j'ai pu citer les mêmes figures pour tous les deux.

On trouvera plus loin des renseignements plus détaillés sur cette espèce et la précédente.

25. **Bacterium Carlsbergense** nov. sp.
(Pl. II, Fig. 55).

Cellules ovales ou elliptiques, incolores, de 2—6 μ de long, à contours peu saillants, faiblement réfringentes et présentant à chaque extrémité une tache assez brillante; en partie isolées, en partie réunies en chapelets. Je n'ai pas observé de mouvement.

Cette forme est si caractéristique qu'il sera facile, avec la description et la figure que j'en ai données, de la reconnaître et de la destinguer des autres espèces de bactéries jusqu'ici décrites; j'ai donc cru devoir lui appliquer dès à présent une dénomination systématique, et j'ai choisi le nom de Carlsbergense d'après le laboratoire où cette espèce a été examinée pour la première fois, et dont un des principaux objets est d'étudier ces organismes microscopiques. Je l'ai trouvée dans des fragments de membrane, à la surface d'un moût houblonné contenu dans un ballon Pasteur qui était resté une dixaine de jours dans le thermostat à 32° C. env.

26. J'ai représenté, Pl. II, Fig. 54, quelques exemplaires d'une bactérie allongée, fusiforme ou presque cylindrique, incolore, immobile, longue de 4—10, 5 μ, à parois distinctes. Celle à deux articles en *a* appartient, je suppose, à là même espèce; c'est ce que semblent indiquer ses parois bien marquées et tout son aspect, de même que sa présence parmi les autres.

Au cas qu'il faille en faire une espèce distincte, je proposerai de l'appeler Bacterium Kochii, d'après le célèbre naturaliste de ce nom. Elle s'est montrée en assez grand nombre à la surface d'une bière blanche de Copenhague qui était restée 14 jours dans le thermostat à 5° C. env.

27. La Fig. 48, Pl. II, représente une bactérie pyriforme, incolore, de 5—8 μ de long sur 1—2 d'épaisseur. Elles étaient immobiles et toujours liées deux à deux de manière à se toucher par leurs extrémités larges.

Il est possible que j'aie également eu affaire à une espèce nouvelle, et, dans ce cas, on pourrait l'appeler Bacterium pyriforme. Elle a été trouvée dans une membrane mucilagineuse, gris-jaunâtre, à la surface d'un moût houblonné qui était resté deux jours dans le laboratoire.

La chaîne représentée Fig. 49 appartient peut-être à cette espèce; cependant elle rappelle aussi dans sa forme extérieure la figure de M. Warming du Bacterium Lineola, mais elle est beaucoup plus petite et n'a pas le contenu granulé qui doit être caractéristique pour ce dernier. Je l'ai trouvée dans de la bière de garde de Carlsberg qui était restée 13 jours dans le thermostat à 20—23° C.

28. **Bacterium fusiforme.** Warm.
(Pl. II. Fig. 53).

29. **Microbactéries.**
(Pl. II, Fig. 50—52").

Sous cette désignation vague je comprends toutes les formes du genre de celles qui sont représentées dans les figures citées.

Elles appartiennent aux organismes les plus petits et sont très peu connues. Si je devais leur donner un nom systématique déterminé, ce serait celui de Bacterium Termo.

Les formes représentées Fig. 52 peuvent décolorer aussi bien la bière de garde que le moût de Carlsberg, de sorte que ces liquides perdent leur belle couleur brune et deviennent en même temps troubles.

30. Micrococcus (forme Torula).
(Pl. II, Fig. 47).

31. Micrococcus.
(Pl. II, Fig. 45).

32. Sarcina.
(Pl. II. Fig. 46.

Oidium lactis Fres.

(Pl. I, Fig 1—19).

Par

Emil Chr. Hansen.

La plupart des auteurs regardent cette espèce comme étant très polymorphe; mais les communications auxquelles elle a donné lieu sont loin d'être concordantes. Cette incertitude, jointe à la circonstance qu'un naturaliste russe distingué, M. Cienkowski, mentionne cet organisme comme commun dans la bière, m'a décidé à le soumettre à une nouvelle étude.

Les recherches le plus récentes sur l'Oidium lactis sont dues à MM. Cienkowski[1]), Billroth[2]), Haberlandt[3]) et Brefeld[4]). Le premier de ces savants est enclin à supposer que son Chalara Mycoderma a la même origine que l'Oidium lactis et peut-être aussi que le Saccha-

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut (Bullet. de l'Acad.-impér des sc. de St. Pétersbourg T. XVII, 1873).
[2]) Billroth, Unters. über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica 1874.
[3]) Haberlandt, Das Vorkommen und die Entwickelung der sogenannten Milchsäurehefe. (Wissenschaftl.-prakt. Unters. auf dem Gebiete des Pflanzenbaues. 1875).
[4]) Brefeld, Ueber Gährung (Landwirthschaftl. Jahrb. V. B. 1876).



romyces Mycoderma (Mycoderma vini Desm.) M. Billroth expose en détail comment les conidies développent une forme semblable au Saccharomyces; mais les dessins et la description qu'il en donne se rapportent au Saccharomyces Mycoderma. M. Haberlandt a fait connaître une forme de fructification de notre espèce qui n'avait pas été décrite auparavant, et qui peut, suivant lui, développer de fins corpophores de 2 millim. de long environ, avec des sporanges blancs qui renferment des spores oviformes et translucides. Pour M. Brefeld, l'Oidium lactis constitue une forme isolée appartenant aux organismes inférieurs, et peut-être une de celles dont on suppose que les formes supérieures se sont développées.

J'ai fait mes essais de culture en partie dans les chambres humides de Böttcher et de Ranvier sous le microscope, en partie dans les ballons Pasteur à deux cols (Etudes sur la bière, p. 29, Fig. 4), en partie enfin par des procédés différents dont je parlerai plus loin. Comme liquide nourricier pour les chambres, j'ai employé du moût houblonné filtré clair, et, au lieu d'huile ou de graisse, je me suis servi de vaseline pour fixer la lame de verre couvre-objet. En effet, cette substance ne rancit pas comme la graisse ordinaire, et on évite ainsi l'action retardatrice que les acides gras exercent sur le développement des organismes microscopiques. Dans la plupart des cas, la germination est survenue après un intervalle de 4—5 heures; mais auparavant les conidies ont augmenté de volume, surtout en épaisseur. Le tube germinatif apparaît d'abord comme une petite saillie verruciforme sur la conidie germante (Fig. 6 [1]) et en constitue un prolongement direct, de manière que non-seulement le protoplasma de la conidie mais aussi sa paroi se continue dans le tube germinatif; il ne se produit par conséquent aucune rupture. Au bout de 10 heures environ, le tube germinatif présentait dans quelques cas une ramification et des cloisons transversales, et après 22 heures j'ai constaté un étranglement des articles; les hyphes décrivaient alors des lignes en zigzag et se résolvaient ensuite en nombreuses conidies. En cultivant ces conidies, on voit le même développement se répéter et les cultures dans des chambres humides n'en donnent jamais un différent.

Les cultures pures que j'ai entreprises d'après la méthode de M. Pasteur dans des ballons à deux cols, également avec du moût houblonné filtré comme liquide nourricier, ont abouti au même résultat. J'ai toujours obtenu une riche végétation d'Oidium lactis, mais seulement de cette espèce et sans la moindre trace de bactéries, de Saccharomyces, de Penicillium ni en général d'organismes étrangers.

Toutefois il n'était pas impossible qu'avec un substratum différent de celui que j'avais employé, cette végétation pût apparaître sous une nouvelle forme et se développer d'une autre manière.

Je semai donc des conidies sur des tranches cuites de carottes, sur du pain et divers excréments, en disposant chacune de ces cultures sous une cloche en verre dont l'air était maintenu humide. Dans tous les cas il ne se produisit que la végétation ordinaire, et je constatai que le fumier de vache et de cheval ne constitue pas un bon substratum pour notre espèce, ce qui est en désaccord avec les communications de M. Haberlandt et d'autres auteurs.

Des ensemencements analogues pratiqués sur des décoctions des substances précédentes et sur les sucs de différents fruits, ont également donné une végétation ordinaire ou n'en ont pas produit du tout.

Il était cependant encore possible qu'une nouvelle forme de fructification, si elle existait, ne pût prendre naissance qu'après un grand nombre de générations de la fructification ordinaire avec des conidies. J'eus donc soin de toujours me procurer de riches végétations en semant sur du moût frais des conidies de celle obtenue en dernier lieu, et réussis bien ainsi à réunir une nombreuse série de bocaux tous infectés d'une vigoureuse végétation d'Oidium lactis; mais dans aucun cas, il ne s'est développé d'autres formes de fructification que la forme ordinaire. Je répétai ces expériences avec du lait comme liquide nourricier, en prenant pour semences soit la végétation qui avait spontanément pris naissance sur le lait dans l'étable, soit des conidies provenant d'un de mes bocaux avec du moût, mais le résultat a toujours été le même. Tel a aussi été le cas pour les expériences analogues que j'ai faites en prenant pour substratum des tranches de carottes, du pain et des excréments. Elles m'ont cependant fourni l'occasion de faire cette observation intéressante qu'une végétation d'ailleurs normale de notre espèce, après avoir été cultivée pendant quelque temps sur un de ces derniers substrata, présente un aspect tout différent de celui qu'elle a d'habitude, de sorte qu'au lieu d'une couche feutrée et velue, on trouve des corps particuliers de forme conique (Fig. 8—10; voir l'explication des Planches), qui sont formés à la base d'hyphes ressemblant à du mycélium, mais au sommet de chaînes de conidies disposées parallèlement à côté les unes des autres, et qui se résolvent facilement en articles isolés. Les poils et le feutrage (Fig. 9—10) se composent de chaînes semblables. Ces corps coniques se produisent avec une grande facilité et, en général, déjà après le premier ensemencement, sur les excréments humains et le pain sans levain convenablement humides. Leur aspect est d'ordinaire différent de celui que présente une vieille végétation sur du lait, que M. Haberlandt a le premier décrite. Dans aucun cas ils ne peuvent être considérés comme une nouvelle forme dans une génération alternante, mais c'est seulement à la nature spéciale de leur substratum qu'il faut attribuer leur aspect plus ou moins insolite, ce qui revient à dire que la végétation de l'Oidium lactis peut, suivant les circonstances extérieures, présenter un habitus différent. Ils ont une grande ressemblance avec les formations de Zoogloea et notamment avec celles que M. Cienkowski[1]) a représentées récemment.

Les essais de culture que j'ai faits avec des conidies germantes en les soustrayant plus ou moins à l'action de l'oxygène de l'air, ont également toujours abouti au même résultat, à savoir que notre

---

[1]) Cienkowski, Zur Morphologie der Bacterien (Mémoires de l'Acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg T. XXV 1877).



espèce, dans toutes les circonstances, ne produit qu'une seule sorte d'organes reproducteurs, c'est-à-dire les conidies ordinaires.

Dans ces essais j'avais employé des conidies provenant d'une végétation spontanée sur de la bière à fermentation haute et sur du lait, et dans lesquelles le microscope ne m'avait pas fait découvrir la plus petite différence. Mais il n'en résultait pas que les formes en apparence identiques développées sur ces liquides ne pussent présenter des différences physiologiques dans le genre de celles qu'on a trouvées chez les Bacillus, par exemple. Je me posai donc une double question, à savoir si mon Oidium lactis de la bière et du moût pouvait développer une végétation normale sur du lait, et si des conidies provenant de la forme du lait pouvaient donner une végétation normale sur les deux premiers liquides. La réponse fut affirmative. La forme prise sur les membranes des infusions végétales, semble aussi, d'après mes essais, appartenir à la même espèce.

Pour contrôler l'exactitude de la soi-disant découverte de M. Haberlandt, j'ai enfin répété ses propres expériences. Après que le lait, avec sa végétation d'Oidium, avait eu le temps de vieillir, cette dernière avait bien d'ordinaire l'aspect velu que l'auteur décrit, mais il ne s'est jamais produit de nouveaux organes de fructification; par contre, j'ai vu apparaître assez souvent des sporanges de Mucor dans des conditions telles, qu'on pouvait être tenté de croire qu'ils étaient un développement de la couche d'Oidium sous-jacente, et se trouvaient par conséquent en connexion vivante avec elle. Mais une préparation et un examen microscopique faits avec soin m'ont permis de reconnaître avec certitude qu'il n'existait entre les deux formes aucune connexion de ce genre, et l'ensemencement des spores des sporanges m'a conduit au même résultat. Des cultures pures faites dans des ballons Pasteur à deux cols n'ont également jamais donné autre chose que de l'Oidium lactis, même après que le lait y avait séjourné plusieurs mois. Les carpophores de M. Haberlandt avec leurs sporanges rapellent un peu un Mucor, mais encore davantage des formes appartenant aux genres Coremium et Stilbum, notamment à ce dernier, et après l'expérience que j'ai acquise par de nombreux essais et un examen fait avec soin, je dois conclure que M. Haberlandt s'est trompé. Je puis encore ajouter que, sur une tranche cuite de carotte où avait été cultivé pendant longtemps de l'Oidium lactis, j'ai observé quelques petites formes du genre Stilbum (Bonorden: Handb. p. 137) dont la tige était blanche, feutrée et assez mince, et la tête, ovale, rougeâtre, visqueuse, brillante et munie de nombreuses petites spores rondes. Elles ne rappelaient pas peu les formes de M. Haberlandt et occupaient par rapport à la végétation de l'Oidium une position qui pouvait bien induire en erreur. Les spores ont germé facilement dans l'eau et le moût, mais n'ont jamais produit d'Oidium lactis.

En ce qui concerne les articles ronds, en forme de bouton, que M. Cienkowski dit avoir vus chez l'Oidium lactis, et qui lui ont fait supposer qu'il pouvait y avoir une continuité organique entre cette forme et son Chalara, je suis à même de communiquer qu'ils ne sont pas un phénomène rare, et qu'on peut les faire naître dans les cultures

où l'alimentation est insuffisante. Ils ne sont ni plus ni moins qu'une des nombreuses formations anormales qui prennent naissance dans des conditions également anormales; je les ai moi-même souvent observés et fait naître aussi bien que d'autres monstruosités (Fig. 11—14). Lorsqu'ils sont aptes à germer, ils développent seulement de l'Oidium lactis.

Parmi les formations anormales, on peut aussi ranger les conidies interstitielles qui apparaissent souvent dans des conditions d'alimentation défavorables (Fig. 15—16). M. Haberlandt, qui les a mentionnées le premier, dit qu'on ne les observe que sur les hyphes submergées; mais je les ai trouvées là où la végétation était maigre, comme aussi, par exemple, dans les corps coniques que j'ai réussi à produire dans mes cultures.

L'Oidium lactis se développe avec une grande rapidité lorsque le substratum et la température lui sont favorables. Sème-t-on, par exemple, quelques conidies sur de la bière contenant une faible proportion d'alcool ou sur du moût dans un bocal ouvert, et dépose-t-on ensuite les cultures dans le thermostat à 32° C., la surface des liquides est déjà dans le cours d'une journée recouverte d'une membrane. Celle-ci ressemble bien un peu à la membrane que forme le Saccharomyces Mycoderma, mais elle s'en distingue par son aspect farinacé, feutré, qui est dû aux conidies; elle est aussi plus blanche et a un aspect si caractéristique qu'après avoir saisi une fois la différence, on peut la reconnaître même à l'œil nu sans se tromper. Les températures comprises entre 19° et 33° C. et surtout celles qui sont voisines de 30° conviennent particulièrement à l'Oidium lactis. Les membranes sont bien blanches d'ordinaire, mais elles peuvent aussi prendre la coloration du substratum; j'ai ainsi, par exemple, obtenu plusieurs fois une belle membrane rose sur du jus d'orange rouge. Pendant sa croissance rapide et vigoureuse, il se sépare comme chez d'autres champignons une forte quantité d'eau.

Il n'est pas rare qu'il y ait dichotomie et trichotomie (Fig. 1—2). Les cellules poussent les nouvelles branches immédiatement au-dessous des cloisons transversales, et c'est ainsi, en général, que se forme la ramification latérale. Cependant ce n'est pas, comme le prétend M. Brefeld, une règle sans exceptions; c'est se que montrent les Fig. 12—13, où, dans un cas (Fig. 12), des branches se sont développées aussi bien immédiatement au-dessus qu'au-dessous d'une cloison, et dans l'autre cas (Fig. 13), la branche primaire en a poussé une secondaire de manière que la cloison la plus voisine n'est pas située au-dessus mais au-dessous de son origine. Dans ces deux cas anormaux, les branches mentionnées en dernier lieu croissent dans une direction opposée à celle où les autres se sont développées, et la cloison dans le voisinage immédiat de laquelle elles prennent naissance occupera donc, relativement à l'extrémité de la branche en question, la même position que par rapport aux branches normales. Considérée à ce point de vue, la règle n'a donc pas été en défaut.

Les principaux résultats de mon travail sur l'Oidium lactis peuvent se résumer dans les points suivants:

1. L'oidium lactis a pour principal habitat le lait et y est très commun.

2. Il donne également une riche végétation sur le moût de bière. On le trouve bien aussi sur la bière, mais à mesure que la proportion d'alcool augmente, elle devient un moins bon substratum, et les bières fortement alcooliques n'ont rien à craindre de ses attaques.

3. Les communications relatives à son apparition très fréquente sur des excréments sont inexactes, et ceux-ci ne peuvent nullement être considérés somme constituant son substratum proprement dit, d'où il se propage.

4. Ni la bière ni le moût ne sont très exposés à être infectés par ses conidies, si elles n'y sont pas semées directement. Par contre, les microbactéries, le Mycoderma aceti et le Saccharomyces Mycoderma s'y développent avec la plus grande facilité, et il ne saurait lutter contre ces rivaux dans une bière riche en alcool comme, par exemple, la bière de garde de Carlsberg.

5. Dans la germination des conidies il se développe en général des hyphes ramifiées, dont la partie submergée forme une espèce de mycélium, tandis que les hyphes qui croissent au-dessus de la surface du liquide produisent des conidies. Néanmoins il n'y a aucune opposition morphologique entre les hyphes à mycélium et celles à conidies.

6. Ce développement se reproduit sur des substrata de diverse nature tant fluides que solides et plus ou moins exposés à l'action de l'oxygène de l'air, et je n'ai jamais trouvé d'autre forme de fructification.

7. La communication de M. Haberlandt sur la découverte d'une forme de sporange qui devrait appartenir à l'Oidium lactis repose évidemment sur une erreur; les sporanges qu'il a décrits doivent principalement être rapportés au genre Stilbum, et ils sont, suivant toute probabilité, un mélange étranger de même nature que celui que j'ai moi-même observé quelquefois.

8. Les articles ronds, en forme de bouton, que M. Cienkowski dit avoir observés, et qui lui ont fait supposer qu'il pourrait y avoir une continuité organique entre l'Oidium lactis et son Chalara Mycoderma, sont des formations anormales qu'on peut faire naître dans des cultures pauvres en éléments nutritifs; lorsqu'ils sont aptes à germer, ils ne produisent que de l'Oidium lactis.

9. Relativement à l'habitus, la végétation peut éprouver des changements très frappants, qui dépendent de la nature particulière du substratum. Les corps coniques qui se développent sur des tranches de carottes, du pain et des excréments humains, en fournissent un exemple intéressant.

10. Les rameaux, comme l'expose M. Brefeld, naissent bien en général au-dessous des cloisons; mais cette règle n'est pas sans exceptions.



Saccharomyces colorés en rouge et cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces.

(Pl. II, Fig. 1—44).

Par

Emil Chr. Hansen.

Dans le cours de mes recherches sur les organismes microscopiques de l'air, j'ai eu l'heureuse chance, en Juillet 1878, de trouver un Saccharomyces coloré en rouge dans un des flacons ouverts, renfermant du moût houblonné clair bouilli, que j'avais exposés à l'action directe de l'air sous les cerisiers dans le jardin de Carlsberg. Il résulte des notes que je pris immédiatement après l'examen de ce champignon qu'il ne diffère que par la couleur du Saccharomyces ellipsoideus, et que, pour tous les autres caractères, il est voisin de la forme que M. Brefeld à décrite et représentée sous le nom de „levûre naturelle (levûre de vin ou levûre sauvage)". Un grand nombre de cellules avaient produit des ascospores, et celles-ci ne différaient en rien d'essentiel des figures de cet auteur.[1])

Il n'est pas fait mention de Saccharomyces colorés en rouge chez M. Reess non plus que chez MM. Pasteur et Engel. MM. Schröter et Cohn[2]) communiquent quelques observations sur ces formes, qui sont désignées par ce dernier naturaliste sous le nom de „levûre rose", et rapportées à l'espèce de Fresenius, le Cryptococcus glutinis, mais avec le nom générique de Saccharomyces.

En examinant moi-même plus tard la description et les dessins de M. Fresenius[3]), je conçus quelques doutes sur l'exactitude de la détermination de M. Cohn; pour les éclaircir, j'établis des comparaisons entre mes propres indications et celles de ces deux savants, et constatai ainsi, outre de nombreuses divergences, beaucoup d'indices qui semblaient annoncer qu'il se cachait plus d'une espèce sous le nom de Cryptococcus glutinis. Mais la question était encore pour moi assez obscure et c'est dans ces conditions que je fis mes premières recherches. Il s'agissait d'abord non-seulement d'obtenir de nouveau, avec des ascospores, l'organisme rouge que j'avais observé auparavant, mais aussi de trouver les formes décrites par MM. Fresenius, Schröter et Cohn. Je répétai donc leurs essais de cultures en ex-

[1]) l. c., Pl. II, Fig. 10 e.
[2]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1 vol. 2 liv., 1872, p. 110 et 187, Pl. III, Fig. 6.
[3]) Fresenius, Beiträge zur Mycologie, 1850—63, p. 77, Pl. VIII, Fig. 43—46.

posant de la colle de pâte et des tranches cuites de pommes de terre à l'action directe de l'air, en partie dans le laboratoire et en partie dans une maison habitée voisine. En même temps je disposai dans plusieurs points du jardin des flacons renfermant du moût houblonné filtré.

Au commencement d'Octobre, une des tranches cuites de pommes de terre, qui avait été entretenue humide et était restée quelques jours dans la cuisine de la maison susmentionnée, présentait à sa surface quelques taches roses, sèches, et de dimensions si petites qu'on pouvait à peine les apercevoir à l'œil nu. Elles étaient en partie isolées, en partie réunies en un grand amas où la belle couleur rose apparaissait bien distincte. En les examinant au microscope, je vis bientôt qu'elles étaient formées d'innombrables petits Saccharomyces, ou du moins de formes qui leur ressemblaient complètement. Les cellules étaient très petites, en général presque sphériques et, par leur forme, ne rappelaient pas peu le Saccharomyces minor d'Engel (Fig. 42—44). C'est en vain qu'en les semant sur des blocs de plâtre maintenus humides avec de l'eau distillée dans un bocal couvert (méthode d'Engel)[1]), j'essayai de provoquer la formation des ascospores. Après l'ensemencement sur la colle, il se produisit rapidement des taches roses comme les précédentes et formées de cellules semblables.

Le 5 Octobre, un des flacons avec du moût houblonné filtré fut ouvert dans le jardin sous les cerisiers. Lorsque je l'examinai le 18, le liquide était encore brun et assez limpide, mais il y avait à sa surface quelques petits îlots de moisissures blanchâtres et de minces fragments de membrane presque roses, en majeure partie composés de cellules ovales, quelquefois presque rectangulaires, qui ressemblaient à des Saccharomyces et renfermaient en général des granules très réfringents (Fig. 38—41). Le précipité contenait les mêmes cellules (voir d'ailleurs: „Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, etc.“, 12me série d'expériences). J'en semai sur de la colle, sur des tranches cuites de pommes de terre, du pain humide sans levain, du biscuit et sur du moût de bière contenu dans un ballon Pasteur à deux cols, et au bout d'un ou tout au plus de deux ou trois jours apparurent des taches rouges, qui, surtout sur la colle et les tranches de pommes de terre, avaient une belle couleur rouge, quelquefois rouge cinabre; dans ce dernier cas, la surface en était tantôt mate et sèche, tantôt brillante et un peu mucilagineuse. L'ensemencement sur le plâtre fut aussi stérile que les autres en ascospores.

Vers le milieu du même mois, j'observai des taches roses analogues sur un peu de colle de pâte que j'avais laissée séjourner pendant quelques jours dans le laboratoire. Elles étaient formées de cellules ovales, incolores, dont le protoplasma était en général granulé et renfermait quelquefois des vacuoles et des granules fortement réfringents. Chose fort singulière, quelques-unes de ces cellules avaient poussé des bourgeons comme des Saccharomyces (Fig. 30, 31, 36), tandis que

---

[1]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872, p. 16.

d'autres étaient pourvues de tubes germinatifs longs ou courts, souvent d'une façon très bizarre (Fig. 10, 19, 27, 29), et assez fréquemment de manière à produire une formation presque semblable à une amœbe (Fig. 20). Bien que les cellules mères, qui, dans un cas, donnaient naissance à des bourgeons et, dans l'autre, à des tubes germinatifs, fussent en apparence identiques, il me parut cependant plus vraisemblable que j'avais affaire ici non à une, mais à deux espèces même très différentes entre elles (comp. par ex. les Fig. 36 et 29). Pour me procurer des matériaux suffisants pour les expériences que je me proposais de faire, j'infectai de ces cellules du moût houblonné filtré, de la colle fraîche et des tranches cuites de pommes de terre, et, au bout de quelques jours, j'obtins, comme je le désirais, une riche végétation colorée en rouge. Mon attention s'était également portée sur la formation des ascospores et j'entrepris dans ce but des essais de culture sur des blocs de plâtre. En examinant au microscope les produits de ces différents substrata, j'observai que les cellules à tubes germinatifs manquaient complètement dans le moût, tandis qu'elles étaient très richement représentées dans les cultures sur le plâtre humide. Les végétations obtenues sur la colle et les tranches de pommes de terre n'en renfermaient qu'un petit nombre, mais, de même que dans le moût, on y trouvait des cellules en partie isolées en partie bourgeonnantes. De cette observation il pouvait y avoir quelque raison de conclure que ma végétation rouge ne se composait peut-être que d'une seule espèce, qui, suivant les circonstances, se présentait tantôt avec le bourgeonnement d'un Saccharomyces tantôt avec des tubes germinatifs. Cette conjecture reçut une nouvelle confirmation de la découverte que je fis de quelques cellules qui avaient poussé à la fois et des bourgeons et des tubes germinatifs (Fig. 12). Dès lors j'étais fixé sur le but à poursuivre dans mes expériences. — Comme exemple, j'en communiquerai ici une série.

Le 21 Octobre, une végétation qui ne renfermait pas de cellules avec des tubes germinatifs fut semée sur des blocs de plâtre, sur des tranches cuites de pommes de terre et des tranches de pommes, sur du moût de bière contenu dans un verre de montre et dans un ballon Pasteur à deux cols, sur de la gélatine et du pain de seigle sans levain, dans ce dernier cas en partie à la surface, en partie dans la masse du pain.

Sur le plâtre: Le 22 Octbr. Plusieurs cellules poussent des bourgeons; pas de tubes germinatifs. Le 23. Plus de la moitié des cellules ont des tubes germinatifs. Le 24. La plupart des cellules ont des tubes germinatifs.

Sur les tranches de pommes de terre et de pommes: Le 22 Octbr. Grandes taches colorées en rouge, beaucoup de cellules bourgeonnantes, aucune avec des tubes germinatifs. Le 25. Les cellules ont continué à se multiplier par bourgeonnement; quelques-unes ont des tubes germinatifs.

Sur le moût dans le verre de montre: Le 25 Octbr. Sur le verre et le pourtour du liquide s'est formé un anneau rouge, un peu mucilagineux, exclusivement composé de cellules allongées, ovales, qui

poussent des bourgeons; mais il n'y en a aucune avec des tubes germinatifs.

Sur le moût dans le ballon Pasteur: Le 29 Octbr. Aucun développement macroscopique.

Sur la gélatine: Le 22 Octbr. Quelques cellules avec des bourgeons, aucune avec des tubes germinatifs. Le 25. La moitié environ des cellules avec des tubes germinatifs.

Sur le pain de seigle: Le 23 Octbr. Taches fortement colorées en rouge ayant presque la couleur de cinabre, surface mate, riche bourgeonnement, presque pas de tubes germinatifs. Dans l'intérieur du pain, les taches sont d'un rouge moins foncé mais ont d'ailleurs la même nature.

J'ai fait plusieurs séries d'expériences analogues et suis constamment arrivé au même résultat, à savoir que des cellules sans tubes germinatifs semées sur du moût de bière ne développaient toujours que de nombreux bourgeons, tandis que les mêmes cellules semées sur de la gélatine ou sur du plâtre cessaient rapidement de bourgeonner et produisaient ensuite des tubes germinatifs en abondance. Je devais être porté à en conclure que les cellules à bourgeons appartenaient à la même espèce que les cellules à tubes germinatifs, et que l'une de ces formes pouvait se développer de l'autre. Il semblait en outre en découler la conséquence que la production des bourgeons exigeait un substratum fermentescible nutritif, tandis que celle des tubes germinatifs réclamait un substratum solide, non nutritif, mais avec l'accès de l'air et l'humidité nécessaire. Si ces conclusions étaient exactes, la végétation bourgeonnante du moût de bière transportée sur le plâtre devait donner des cellules avec des tubes germinatifs, et celles-ci semées de nouveau sur du moût de bière frais devaient produire une végétation riche en bourgeons, sans formation de tubes germinatifs. Je procédai donc à cette vérification et obtins le résultat que j'espérais. Une petite partie de la culture sur le moût du 25 Octobre, qui ne renfermait pas de cellules avec des tubes germinatifs, fut transportée sur un bloc de plâtre bien propre, que je recouvris ensuite avec soin. J'en examinai le lendemain quelques échantillons au microscope, et n'y trouvai encore que des cellules à bourgeons, mais trois jours après les tubes germinatifs apparaissaient en grand nombre, et ayant été immédiatement transportés partie dans du moût de bière, partie dans du moût de raisin cuit, ils s'y multiplièrent rapidement par bourgeonnement.

Ces expériences confirmaient à un haut degré la justesse de mes vues, sans pourtant en donner une preuve complète, qui ne pouvait être fournie que par l'observation directe du passage de l'une de ces formes à l'autre, en les plaçant dans les conditions différentes mentionnées plus haut. Dans ce but, j'entrepris des cultures dans les chambres humides, en prenant pour substratum du moût houblonné filtré ou du moût de raisin cuit, de la gélatine et des blocs de plâtre. Des cellules isolées, prises dans les chambres, furent alors, l'une après l'autre, observées pendant longtemps à de très courts intervalles, et leur développement suivi avec soin. Conformément à mon attente, je constatai qu'elles ne se multipliaient que par bour-

geonnement dans les liquides fermentescibles (Fig. 1 —3''' et 35—35''') et n'y développaient jamais des tubes germinatifs. Des cellules ainsi produites, quelques-unes furent semées sur du plâtre, d'autres dans un nouveau liquide nourricier de la même nature que le premier et le reste à la surface d'un petit morceau de gélatine complètement transparent et maintenu humide. Cette dernière substance me fournit un moyen d'observer sans interruption le développement ultérieur des cellules obtenues par bourgeonnement dans le liquide fermentescible. Je pus en effet disposer sur une lame porte-objet, sous le microscope, mon morceau de gélatine avec ses cellules, dont le nombre avait été compté tout d'abord, et les observer même avec l'objectif F du microscope de Zeiss, sans avoir besoin de recourir à une lame couvre-objet. Au commencement, les cellules se multiplièrent encore par bourgeonnement, mais avec lenteur et sans doute seulement aussi longtemps que le liquide nourricier qui y était resté adhérent ne fut pas épuisé. Au bout de trois jours, la plupart commencèrent ordinairement à pousser des tubes germinatifs (Fig. 17, 18, 21); mais la production en était toujours plus rapide et plus certaine sur le plâtre. Quelques-unes des cellules ainsi observées ayant alors été reportées sur le moût de bière ou le moût de raisin dans une des chambres humides, je reconnus que non-seulement les cellules mères mais aussi, dans la plupart des cas, les tubes, poussaient des bourgeons (Fig. 4—7, 13, 15, 16). Le pigment rouge se trouvait et dans les bourgeons et dans les cellules à tubes germinatifs.

Il n'y a donc plus de doute que les deux formes n'appartiennent à la même espèce, et que le bourgeonnement et la formation des tubes ne dépendent de conditions extérieures différentes. En considérant celles qui sont offertes aux cellules à tubes germinatifs sur le plâtre et sur la gélatine, je devais présumer qu'il serait aussi possible de provoquer ce développement dans une chambre humide. Je me servis dans ce but de la chambre de Böttcher avec des tubes à air, en la disposant de façon à la tenir continuellement remplie de vapeur d'eau. Après avoir été débarrassées par un lavage à l'eau distillée du liquide nourricier qui y était adhérent, les cellules furent placées sur la face inférieure de la lame couvre-objet et celle-ci fut fixée à l'anneau avec de la vaseline. Mais je ne réussis que dans quelques cas à obtenir une production de tubes germinatifs; le plus souvent les cellules restèrent dans le même état, sans doute à cause de quelque défaut dans les conditions hegrométriques, qu'il est très difficile de régler convenablement par cette méthode.

Dans la chambre de Ranvier, avec du moût de bière comme liquide nourricier, les cellules se multipliaient d'ordinaire rapidement par bourgeonnement, qu'il y eût ou non des tubes à air et qu'elles fussent placées au milieu de la surface du liquide ou près de ses bords. Il s'écoulait en général $1^1/_2$—2 heures, rarement 3, entre le moment où l'on pouvait entrevoir la nouvelle cellule comme une toute petite saillie sur la cellule mère, et celui où, ayant atteint tout son développement, elle devenait libre. Le plus souvent, elle se séparait très vite de sa cellule mère et par suite il se formait rarement des colonies. Une culture vieille de plusieurs jours en renfermait cepen-

dant beaucoup. J'observai fréquemment, chez des individus vigoureux, qu'une cellule développait successivement, au même point, un assez grand nombre de cellules nouvelles, une fois 5 en 12 heures, une autre fois 3 en 8 heures, de manière que la précédente devenait libre lorsque la suivante commençait à se montrer. Le phénomène présentait une régularité et une répétition bien marquées, chaque cellule nouvelle naissant non-seulement sur le même point de la cellule mère ou de son tube germinatif que la précédente, mais en répétant tout le développement (Fig. 1—3''') et en reproduisant la forme; il n'y avait de différences notables que relativement au temps. Il se produit donc une répétition régulière dans tout le développement, et les cellules bourgeonnantes ont certains points végétatifs déterminés qui servent exclusivement. Une cellule mère peut en avoir un ou plusieurs, et si elle est ovale, ce qui est le cas le plus fréquent, ils sont en général placés sur ses extrémités en forme de coupole. Lorsque la cellule bourgeonnante a un tube, ce dernier sert régulièrement à la multiplication, mais une cellule vigoureuse peut en outre avoir un ou même deux points végétatifs, de sorte qu'elle pousse un bourgeon non-seulement de son-tube, mais aussi de chacune de ses extrémités, c'est-à-dire trois en tout (voir l'explication des Fig. 1—3'''). Le tube germinatif, comme mes figures le montrent (Fig. 1—29, 33—34), peut varier beaucoup de forme et de grandeur, et naître de différents points de la cellule mère, mais rarement de ses extrémités. Il est souvent court, raide, terminé en pointe (Fig. 12), mais peut aussi être assez long, sinueux et à bout arrondi (Fig. 8, 26), et on en trouve assez fréquemment qui sont ramifiés et fendus à leur extrémité (Fig. 25—29). Il se gonfle en général dans le liquide fermentescible au moment de bourgeonner, et a, comme la cellule mère, son point végétatif déterminé, d'où sortent également l'une après l'autre et de la même manière les cellules nouvellement formées. Le point végétatif n'est pas nécessairement situé au sommet du tube, mais peut aussi se trouver au-dessous (Fig. 13); je n'en ai jamais rencontré plus d'un. Dans les cultures sur le plâtre, il arrive souvent que tout le protoplasma de la cellule mère passe dans le tube, dont la pointe se gonfle alors quelquefois, et il n'est pas rare que sa partie inférieure se vide comme la cellule mère (Fig. 7—8). J'ai trouvé une ou deux fois dans mes cultures des cellules dont le tube était très épais à la base et garni de rameaux relativement épais à sommets arrondis (Fig. 32); mais je doute qu'elles appartiennent réellement à notre espèce. Dans de vieilles cultures faites sur du plâtre, j'ai observé quelquefois des tubes avec une cloison (Fig. 11). Je renvoie du reste aux figures et à l'explication qui les accompagne.

Les organismes à pigment qui nous occupent peuvent donc se multiplier par bourgeonnement dans le moût de bière et produire, surtout sur la colle et les tranches cuites de pommes de terre, de belles taches roses et rouge cinabre. Aussi longtemps qu'elles sont d'un rouge pur, on n'y trouve pas de bactéries; mais lorsque celles-ci apparaissent, il se produit un changement de coloration, elles prennent une teinte grisâtre ou jaunâtre, et leur belle couleur rouge peut finir

par disparaître complètement. C'est seulement lorsque les cellules sont réunies en masse que cette couleur se manifeste; les regarde-t-on isolément au microscope à la lumière transmise elles sont incolores, et à la lumière réfléchie (appareil d'Abbe), elles ont sur un fond sombre l'apparence d'un verre blanchâtre. Relativement aux essais de cultures mentionnés plus haut, nous ferons remarquer qu'ils ont tous été faits dans une pièce dont la température était pendant le jour de 17—18 et, pendant la nuit, de 8—9° C.

Nos organismes colorés en rouge semblent appartenir à deux ou peut-être trois espèces différentes, dont celle qui est représentée Fig. 42—44 est sans doute identique avec le Saccharomyces glutinis de Cohn, et se distingue surtout par sa forme plus ou moins sphérique et sa petitesse. La forme recueillie dans le jardin est sans contredit une espèce du genre Saccharomyces; tel est du moins le cas pour les exemplaires observés en premier lieu, et dont plusieurs, comme nous l'avons dit, renfermaient des ascospores. Ceux obtenus en Octobre (Fig. 38—41) ont des cellules ovales, souvent un peu anguleuses, et appartiennent certainement à la même espèce que les précédents avec des ascospores. Enfin la troisième espèce (Fig. 1—37) est caractérisée par ses remarquables tubes germinatifs; ses cellules bourgeonnantes ressemblent surtout au Saccharomyces du jardin, mais elle ne se laisse pas bien rapporter à ce genre, et c'est peut-être quelque espèce du genre Exoascus. J'attendrai donc d'avoir recueilli de nouvelles observations pour établir la dénomination systématique de cette forme et de la précédente.

En examinant la description et les figures que M. Fresenius a données de son Cryptococcus glutinis, on voit qu'il est beaucoup plus voisin de mon espèce décrite en dernier lieu que de la forme sphérique de M. Cohn. La Fig. 46 de Fresenius reporte en effet la pensée sur une cellule mère qui a poussé un long tube germinatif, de l'extrémité duquel se dégage un bourgeon. Mais comme M. Cohn a rattaché le nom spécifique de „glutinis" à sa forme sphérique et donné de celle-ci une figure facile à reconnaître, il sera plus pratique de ne rien changer à cet égard. Il n'est d'ailleurs pas possible de décider avec une complète certitude quelle est la forme que M. Fresenius a examinée.

En résumé:

1. Sous le nom spécifique de Cryptococcus glutinis Fres. se cachent en réalité plusieurs Saccharomyces colorés en rouge et des cellules rouges qui ressemblent à des organismes de ce genre.

2. Outre la forme décrite par M. Cohn sous le nom de Saccharomyces glutinis (Fres.), le présent mémoire en mentionne deux autres, dont la première est pourvue d'ascospores comme une véritable espèce de Saccharomyces, et la seconde, de cellules ressemblant à des Saccharomyces, lesquelles, dans un liquide fermentescible (moût de bière, moût de raisin), se comportent morphologiquement comme un Saccharomyces et se multiplient par bourgeonnement, tandis que dans des conditions de nutrition incomplètes, par exemple sur un substratum solide, où elles ne trouvent d'autres aliments que de l'air et de

l'humidité, elles développent des tubes germinatifs d'aspect différent, souvent remarquable.

3. Les tubes, de même que la cellule mère d'où ils sont issus, poussent des bourgeons dans un liquide fermentescible.

Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation.

Annexe au mémoire du même titre publié dans la livraison de 1878, p. 72 du texte danois et p. 38 du résumé français.

Par

Emil Chr. Hansen.

Les recherches de MM. J. C. Jacobsen et Rasmus Pedersen ont montré, conformément à ce qui avait déjà été reconnu par d'autres observateurs, que la fermentation est plus rapide et la quantité de levûre produite plus grande, lorsque le moût est aéré pendant la fermentation que lorsqu'on l'abandonne à lui-même. Il semble en outre en résulter que la puissance fermentative des cellules de levûre diminue par l'aération, de sorte que la quantité de substance sèche que 1 gr. de levûre, par exemple, transforme en alcool, acide carbonique, etc. est moindre que lorsque le moût n'est pas aéré pendant qu'il fermente.

Mais les recherches auxquelles on s'est livré jusqu'ici peuvent soulever l'objection qu'une partie des cellules de levûre, dans le vase aéré, restent certainement longtemps en repos et ne sont peut-être pas du tout influencées par le courant d'air affluent. On pourrait alors supposer que la fermentation provient exclusivement de ces dernières cellules, tandis que le bourgeonnement s'opère uniquement par celles qui sont baignées d'air. La question de savoir si les cellules de levûre, lorsqu'elles sont sous l'influence de l'oxygène de l'air, peuvent provoquer la fermentation, ou si, dans ces circonstances, elles perdent cette faculté pour seulement se multiplier, mais sur une plus large échelle, n'était en réalité pas résolue. Il fallait aussi pour cela un appareil disposé de manière que les cellules pussent toutes être maintenues dans un tournoiement continuel et subir l'action de l'air affluent. Dans ce but, M. Jacobsen a, avec l'aide de M. Hornung, construit l'appareil représenté Fig. 1 et 2 en élévation et en plan, à l'échelle de $^1/_5$.

Il se compose d'un cylindre en verre (*a*) emboîté hermétiquement dans un fond en bronze (*b*) et muni d'un couvercle annulaire (*c*), sur lequel est vissée une traverse (*d*), qui supporte en son centre un axe vertical (*e*) dont le pivot conique (*f*) tourne dans une crapaudine dans le fond du cylindre. Au-dessus du pivot, l'axe porte un manchon auquel sont fixées 4 ailes de laiton (*g*), qui forment une hélice inclinée

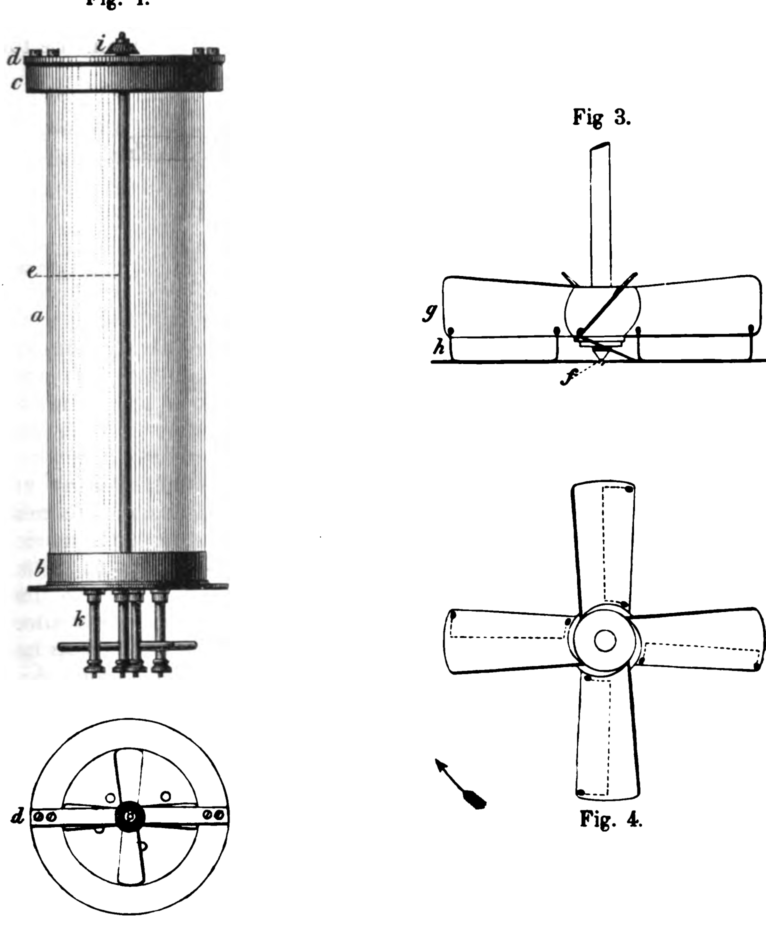


Fig. 2.

de 45° et ayant à peu près le diamètre du cylindre. Les ailes sont chacune munies d'une traîne en fils de cuivre (*h*), qui, lorsque, l'axe et l'hélice tournent, glisse sur le fond sous un angle de 60°. Le système est mis en mouvement au moyen d'une roue conique (*i*) que l'axe porte à son extrémité supérieure, et qui engrène avec une autre roue conique actionnée par un mouvement d'horlogerie. Les Fig. 3

et 4 représentent en coupe verticale et en coupe horizontale, à l'échelle de $^1/_2$, la partie inférieure de l'axe, les ailes et le pivot. Dans le fond du cylindre sont vissées 4 soupapes (*k*) pour l'entrée de l'air, dont l'une est représentée Fig. 5 en grandeur naturelle. Elles se composent d'une tube vertical renfermant une tige (*m*) qui en traverse le fond et se termine en haut par un bouchon conique (*n*). Elle est entourée d'un ressort en spirale qui s'appuie d'un côté contre le bouchon et de l'autre contre le fond du tube, et son extrémité inférieure (*o*), qui est filetée, porte un écrou (*p*) à l'aide duquel on peut à volonté faire monter ou descendre la tige avec le bouchon. Le tube

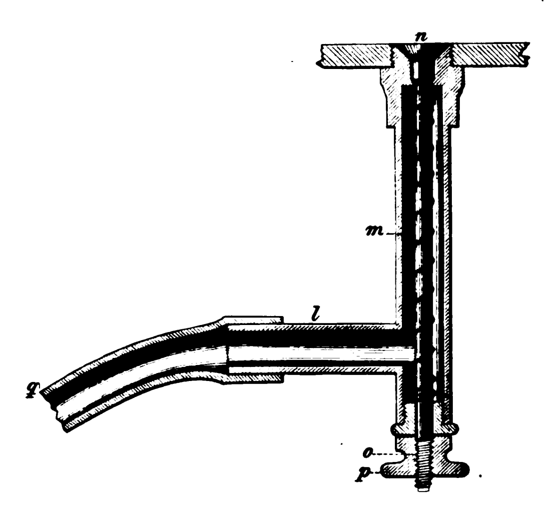


Fig. 5.

est muni d'une branche latérale (*l*) sur laquelle, lorsque l'appareil doit servir, on adapte un tuyau en caoutchouc (*q*) communiquant avec l'appareil à air comprimé mentionné p. 39, lequel envoie de l'air filtré dans les soupapes. Celui-ci s'élève entre la tige et les parois du tube et, lorsque la vis est desserrée, le ressort, en se tendant, fait monter la tige et le bouchon, mais pas au-dessus du fond du cylindre, de sorte que l'air injecté y pénètre en bulles fines tout autour du bouchon. A l'exception du cylindre en verre (*a*), tout le reste est en métal argenté.

A l'aide de cet appareil, j'ai poursuivi les expériences d'aération commencées ici il y deux ans. Pour déterminer la multiplication de la levûre, je me suis servi de la méthode de numération, en employant l'hématomètre de Hayem et Nachet, que M. le professeur Panum a introduit au laboratoire. Relativement au liquide dilué qui est a préférer pour la numération, je ferai observer qu'il doit non-seulement avoir, par rapport au moût et aux cellules de levûre, un poids spécifique tel que celles-ci puissent par l'agitation s'y répartir d'une

manière uniforme, mais aussi pouvoir contribuer à séparer les cellules qui s'agglomèrent souvent en petits tas qu'on ne peut désagréger seulement en agitant et en secouant le liquide. Il faut en outre qu'il puisse limiter la formation de l'écume et arrêter immédiatement la fermentation et la multiplication des cellules de levûre. Après beaucoup d'essais j'ai enfin trouvé qu'un liquide renfermant 1 partie en poids d'acide sulfurique concentré et 10 parties d'eau remplissait les conditions voulues. L'acide chlorhydrique peut également servir, mais il est d'un maniement désagréable. L'ammoniaque et la soude se laissent aussi employer, mais elles sont loin de valoir les deux acides précédents. Tant que le nombre des cellules de levûre n'était pas très grand, j'ai employé 1 volume d'acide sulfurique dilué pour 1 volume de moût en fermentation, mais plus tard, lorsque ce nombre s'était considérablement accru, 4 volumes d'acide sulfurique dilué ét 2 d'eau ou 6 volumes d'acide sulfurique dilué pour le même volume de moût. Il vaut mieux, pendant quelques moments, laisser l'acide agir seul avant d'ajouter l'eau et il est nécessaire de bien agiter et battre le mélange pour que les cellules s'y répartissent uniformément.

Les expériences ont été faites comme précédemment dans la pièce obscure. On a versé dans le cylindre en verre (Fig. 1) et dans 5 bocaux de la même forme et de la même grandeur placés à côté 1 litre de moût houblonné filtré, après y avoir, au préalable, semé de la levûre basse de Sacch. cerevisiae provenant de la brasserie. Les 6 vases ont été recouverts immédiatement et plaques de verre et traités autant que possible de la même manière; mais tandis que les 5 bocaux restaient en repos, les cellules de levûre, dans le cylindre (Fig. 1), étaient maintenues dans un mouvement continuel par l'air affluent — on en injectait environ 18 litres par heure — et surtout par les ailes et leurs traînes. Le mouvement d'horlogerie marchant avec un pendule, le mouvement dans le liquide se faisait un peu par saccades, circonstance d'ailleurs favorable, comme les cellules tournoyaient encore davantage et étaient animées d'un mouvement propre au lieu d'être entraînées passivement par les courants produits dans le liquide. Tant que les ailes tournaient, elles n'avaient pas un moment de repos; mais, dès que le mouvement d'horlogerie s'arrêtait, elles tombaient rapidement au fond. Lorsque ce dernier marche sans pendule, les ailes font 86 tours par minute, et avec le pendule, qui a toujours été employé dans ces recherches, 46 seulement. On a fait chaque fois une expérience comparative avec un des bocaux non aérés; relativement au liquide aéré, les échantillons nécessaires ont été pris dans le cylindre, où on les a remis immédiatement après en avoir distrait la quantité insignifiante qui devait servir à la numération. Les résultats de deux de ces séries d'expériences sont consignés dans le tableau suivant:

I.

Dates.	Non aéré.				Aéré.			
	Poids en centièmes (Balling).	Extrait décomposé par la fermentation.	Nombre des cellules de levûre par unité de volume.	Multiplication des cellules de levûre.	Poids en centièmes (Balling).	Extrait décomposé par la fermentation.	Nombre des cellules de levûre par unité de volume.	Multiplication des cellules de levûre.
		%				%		
23 Mai. 8 h. du matin ...	10	0	41	1	10	0	41	1
do. soir	9,67	0,33	126	3	9,51	0,49	140	3,4
24 Mai. matin	9,18	0,82	179	4,3	8,78	1,22	387	9,4
do. soir	8,49	1,51	218	5,3	6,91	3,09	960	23,4
25 Mai. matin	7,68	2,32	375	9,1	4,95	5,05	1274	31
do. soir.	6,99	3,01	465	11,2	3,99	6,01	1470	35,8

II.

		%				%		
28 Mai. 8 h. du matin ...	10	0	55	1	10	0	55	1
do. soir	9,34	0.66	135	2,4	9,26	0,74	250	4,5
29 Mai. matin	8,47	1,53	279	5	7,38	2,62	800	14,5
do. soir	7,38	2,62	336	6,1	4,73	5,27	1400	25,4
30 Mai. matin	6,40	3,6	405	7,3	4,04	5,96	1498	27,2
do. soir	5,58	4,42	495	9	3,98	6,02	1505	27,3

Dans la première série d'expériences, la température de la pièce était de 12—14 et, dans la seconde, de 13—16° C.

En comparant, dans le tableau n° I, le moût non aéré, le 25 Mai au soir, avec le moût aéré, 24 heures auparavant, on trouve qu'ils renfermaient tous les deux 6,9 % d'extrait; mais tandis que, dans le premier, il a fallu 24 heures de plus pour en décomposer 3 % environ, le travail de la fermentation, comme l'indiquent les chiffres

du tableau, a été réparti dans le second entre un nombre bien plus considérable de cellules de levûre. Ainsi pour produire la même fermentation, il faut, d'un côté, un temps plus long et un nombre plus petit de cellules et, de l'autre, un temps plus court et un nombre plus grand de cellules. Le tableau n° II conduit à des conclusions analogues, si, par exemple, on compare le moût aéré et le moût non aéré aux époques où ils renfermaient tous les deux 7,38 % d'extrait. Ces expériences et d'autres que j'ai entreprises montrent que, pendant l'aération, il se produit une plus grande quantité de cellules, en même temps que la fermentation est plus rapide et que la puissance fermentative des cellules de levûre semble décroître, puisque le même travail en exige un plus grand nombre.

Les recherches faites avec l'appareil perfectionné décrit plus haut ont donc abouti au même résultat que celles qui ont été entreprises auparavant soit dans le laboratoire de Carlsberg, soit ailleurs[1]). Il est aussi permis de regarder à présent comme un fait acquis que des cellules de levûre exposées à l'action de l'oxygène de l'air peuvent néanmoins provoquer la fermentation. Que la grande multiplication des cellules de levûre qui se fait dans le moût aéré ne soit pas due seulement au courant d'air injecté, mais dépende aussi à un haut degré de l'agitation imprimée au liquide, c'est ce que je montrerai à l'occasion de l'hypothèse d'Horvath, dont il sera question plus loin. L'agitation sans aération pourra peut-être être employée avec avantage dans la production en grand de la levûre dans les fabriques de levûre.

On voit par les tableaux que la multiplication la plus grande, dans les deux séries d'expériences, a eu lieu pendant le premier espace de temps (12 heures). La fermentation la plus active s'est au contraire manifestée plus tard, à savoir pendant le quatrième espace de temps dans la première série et dans le troisième dans la seconde.

Dans les recherches du genre de celles qui nous occupent, on part de la supposition assurément vraisemblable que chaque cellule de levûre vivante participe au travail de la fermentation; mais, en réalité, nous ne savons pas si les cellules de levûre sont aptes à produire la fermentation dans toutes les phases de leur existence, depuis le moment où elles apparaissent comme de petits bourgeons jusqu'a celui où, devenues vieilles, elles ont à leur tour poussé des bourgeons.

---

[1]) Excepté cependant celles de M. Nägeli; voir Theorie der Gährung, 1879, p. 19—26.

Hypothèse de Horvath.

Par

Emil Chr. Hansen.

Un physiologiste russe, M. Horvath, a publié dernièrement un curieux travail sur la découverte d'une loi nouvelle, jusqu'ici inobservée, relative au monde des organismes. Des expériences sur les bactéries l'ont amené à conclure que le repos active et le mouvement retarde leur développement, et il croit pouvoir étendre cette loi aux organismes en général[1]). Il a opéré sur les bactéries parce qu'avec elles il est possible de constater dans un liquide nourricier limpide si elles se sont multipliées ou non, le liquide se troublant dans la même proportion que la multiplication devient plus active. Mais le Saccharomyces cerevisiae offre à cet égard des conditions tout aussi favorables ou même plus favorables, surtout lorsqu'on se sert de l'hématomètre de Hayem et Nachet pour déterminer la multiplication des cellules.

On trouvera ci-après un aperçu des éxpériences que j'ai entreprises à ce sujet en employant l'hématomètre et l'appareil rotatoire décrit plus haut, mais naturellement sans y injecter de l'air. C'est M. le professeur Panum qui a appelé le premier mon attention sur l'hypothèse de Horvath et m'a engagé à la vérifier.

Expériences pendant l'été de 1878.

1 litre de moût houblonné filtré (extrait 10 % Balling) fut additionné de 2^{cc} de levûre pure épaisse (levûre basse de Saccharomyces cerevisiae provenant de la brasserie), et, après l'avoir bien remué, on le versa moitié dans le cylindre A de l'appareil (Fig. 1, p. 89) et moitié dans un bocal B de la même forme et de la même grandeur, qui fut placé à côté de A. Les deux vases furent recouverts de plaques de verre et autant que possible traités de la même manière, seulement avec la différence, que les cellules de levûre dans A étaient maintenues dans un mouvement continuel par les ailes et leurs traînes, tandis que dans B elles étaient abandonnées à elles-mêmes. Au commencement de l'expérience, il y avait 45 cellules par unité de volume tant dans A que dans B, mais à la fin, c'est-à-dire au bout de 96 heures, on en comptait 1374 dans A et 696 dans B. La multiplication était donc de 30,5 dans A et de 15,4 dans B. Quant à la proportion d'extrait, elle était réduite à 3,9 % dans le premier vase (A) et à 4,2 % Bal.

---

[1]) Horvath, Ueber den Einfluss der Ruhe und der Bewegung auf das Leben. (Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, 17 B., 1878, p. 125).

dans le second (B). Ayant ensuite déterminé le poids de la levûre sèche dans les deux vases, je trouvai qu'il était 1,8 fois plus grand dans A que dans B, ce qui s'accorde très bien avec le rapport entre les deux nombres ci-dessus 1374 et 696. La température de la pièce était de 16—20° C. Le mouvement d'horlogerie marchait pendant la nuit avec un pendule qu'on enlevait pendant le jour. En recommençant l'expérience, j'obtins le même résultat.

Expériences pendant l'été de 1879.

Les expériences précédentes furent reprises le 15 Mai. Au début, il y avait 50 cellules par unité de volume tant dans A que dans B, mais, 96 heures plus tard, A en renfermait 1260 et B, 460; la multiplication était donc de 25,2 dans le premier vase et de 9,2 dans le second. La proportion d'extrait était réduite respectivement à 4,2 et 4,9 % Ball. Quant au poids de la levûre sèche, il était 1,47 fois plus grand dans A que dans B, par conséquent moindre que le rapport $\frac{1260}{460} = 2,74$, ce qui s'explique par la circonstance qu'il s'était formé dans A un grand nombre de très petites cellules. La température de la pièce était de 9—15° C.

24 Mai. Deuxième expérience, les deux vases renfermant chacun 1 litre de moût avec 42 cellules par unité de volume. Au bout de 96 heures, il y en avait 1043 dans A et 552 dans B, ce qui donne un rapport de 1,8; la multiplication était par conséquent de 24,8 dans le premier vase et de 13,1 dans le second; cependant le mouvement d'horlogerie avait été arrêté plusieurs fois. Température de la piéce, 14—17° C.

1 Juin. Troisième expérience, mais avec un moût plus riche en extrait (13,55 % Ball.) dont on versa $^1/_2$ litre dans chaque vase. De 36 à l'origine, le nombre des cellules de levûre par unité de volume s'était, aprés 48 heures, élevé à 1064 dans A et à 420 dans B; la multiplication était donc de 29,5 dans le premier vase et de 11,6 dans le second, et le rapport entre leurs cellules $\frac{1064}{420} = 2,5$. La proportion d'extrait était de 5,43 dans A et de 8,8 dans B. Pendant toute la durée de cette expérience, le mouvement d'horlogerie a marché avec un pendule sans autre arrêt que le temps nécessaire pour le remonter. Température de la pièce, 13—15° C.

L'unité de volume choisie pour la numération des cellules de levûre a toujours été la même, et toutes les expériences ont été faites dans la pièce obscure.

Les nombres ci-dessus montrent que les cellules de levûre se sont constamment multipliées en plus grande proportion dans A que dans B; mais, d'après l'hypothèse de Horvath, nous aurions dû attendre le contraire. Que ce résultat soit uniquement dû à l'agitation imprimée au liquide, ou peut-être en même temps à la répartition plus égale des parties nutritives qui en a été la conséquence, il n'en reste pas moins certain que ce n'est pas le repos mais le mouvement qui active la multiplication des cellules, et c'est là le point de la question. L'introduction de l'air pendant la marche de l'appareil est si insignifiante, qu'elle ne peut avoir eu aucune influence, et il en est de même

de l'accroissement de température produit dans le liquide par la rotation de l'appareil, car je me suis assuré par des observations faites avec soin qu'il est à peine sensible. La levûre examinée au microscope, était entièrement ou presque entièrement exempte d'organismes étrangers, et les cellules de A et de B avaient le même aspect.

C'est l'application générale que M. Horvath fait de sa nouvelle loi que j'ai voulu vérifier dans les expériences qui précèdent. Quant aux recherches auxquelles il s'est livré sur les bactéries, je n'en puis rien dire, parce que je n'ai pas eu à ma disposition l'appareil nécessaire. M. Nägeli a émis des doutes à ce sujet.[1])

En résumé, même en ne rejetant pas complètement l'hypothèse de M. Horvath, il n'en reste pas moins acquis qu'elle n'a pas un caractère général, et que le Saccharomyces cerevisiae se multiplie en plus grande proportion dans le moût de bière lorsqu'il est en mouvement que lorsqu'il est en repos.

Mycoderma aceti (Kütz) Pasteur et Myc. Pasteurianum nov. sp.

(Pl. II, Fig. 60—70.)

Par

Emil Chr. Hansen.

Dans un des chapitres précédents, j'ai indiqué par quel moyen j'avais obtenu des cultures pures de Mycoderma aceti, et j'ai fait voir que la bière de garde de Carlsberg et d'autres bières basses analogues, lorsque, dans un vase ouvert, on les exposait dans le thermostat à une température de 30—34 ⁰ C., donnaient, au bout de 2—3 jours, naissance à des membranes. Celles-ci se composent principalement des chaînes types de l'espèce dont il s'agit (Fig. 61), mais on y trouve aussi quelques-uns des corps filiformes et irrégulièrement renflés représentés Fig. 64, dont la forme, la grandeur et tout l'aspect sont très variables, comme le montrent les figures. En considère-t-on des exemplaires tels que b, f et g, on a de la peine à croire qu'ils appartiennent, comme les chaînes, au Mycoderma aceti, mais un examen plus attentif en fait bientôt découvrir d'autres en train de se diviser

[1]) l. c. p, 88—93.

en articles qui ressemblent aux chaînes types, et est-on une fois remonté à des formes telles que *a* et *i*, on n'éprouve plus de difficulté à les regarder comme des formes de transition. La question toutefois reste encore indécise. Mais les formes dont il s'agit se sont toujours montrées dans mes essais de culture, même lorsque je ne semais que des chaînes types, et cette preuve plus décisive jointe à la première rend la justesse de ma manière de voir très vraisemblable; on en trouvera plus loin d'autres preuves. J'ai assez souvent trouvé des chaînes semblables à celle de la Fig. 70, dont les petits articles étaient très réfringents et les grands, munis d'une paroi distincte, et j'ai aussi constaté dans les articles (Fig. 66) la présence de petits corps fortement réfringents, presque sphériques (spores?). C'est toute une série de détails de structure dont mes prédécesseurs n'ont pas parlé.

En étudiant l'action des divers réactifs sur le Mycoderma aceti, j'observai que quelques préparations microscopiques qui renfermaient une végétation de belles chaînes étaient colorées en bleu par l'iode, tandis que d'autres l'étaient en jaune. Il va sans dire que je poussai plus loin mes recherches. Il s'agissait en effet de savoir si les chaînes que l'iode colorait en bleu, malgré leur parfaite ressemblance avec celles à coloration jaune, constituaient une espèce à part ou n'en étaient qu'une variété particulière, hypothèses qui avaient en leur faveur autant de probabilités l'une que l'autre. Les deux formes étaient d'ailleurs si identiques que j'ai pu les représenter avec les mêmes figures (voir l'explication des planches). C'est au moyen des cultures pures déjà souvent mentionnées que j'ai réussi à résoudre la question.

En exposant la bière de garde de Carlsberg dans un vase ouvert à la température de 30—34° C., j'obtins comme d'habitude des membranes composées de l'espèce que dès l'origine j'avais appelée Mycoderma aceti, et qui est colorée en jaune par l'iode. Le liquide était toujours limpide et fortement acide. Je semai alors ces membranes sur de la bière de garde, dans des flacons que je coiffai aussitôt d'une feuille de papier à filtrer, passée préabablement à travers une flamme pour empêcher les organismes étrangers d'y pénétrer. Je procédai de la même manière avec les membranes qui se coloraient en bleu par l'iode, mais en les prenant sur de la bière haute, comme elles ne se formaient pas spontanément sur la bière de garde. Tous les flacons furent successivement exposés dans le thermostat à la température de 33° C. Dans les nombreuses expériences que j'ai ainsi faites parallèlement avec les deux organismes, j'ai toujours, suivant que je les semais l'une ou l'autre en ayant soin seulement de ne pas les mélanger, obtenu des cultures pures soit de la première, soit de la seconde, et ce résultat n'a jamais varié, bien que j'aie poursuivi ces expériences pendant deux mois avec des bières différentes.

Les membranes que l'iode colorait en bleu se composaient, comme les autres, en partie de chaînes, avec leurs articles de forme et d'aspect divers, grands, petits, mats, fortement réfringents, cylindriques, en forme de sablier, sphériques etc. (Fig. 61, 65, 66 et 70), en partie des corps irréguliers, filiformes décrits plus haut (Fig. 64) et enfin des cellules à parois distinctes représentées Fig. 63, et le tout

sans exception se colorait en bleu par l'iode, ce qui indique que les formes représentées Fig. 60—70 appartiennent à la même espèce. Cette considération est en outre confirmée par la circonstance que toutes les autres bactéries observées jusqu'ici dans la bière et le moût de bière sont colorées en jaune par le même réactif. Tout cela prouve bien que j'ai eu affaire à deux espèces distinctes, et que j'ai réussi à obtenir des cultures pures de chacune d'elles. Je me permets de classer mon nouvel organisme sous le nom de Mycoderma Pasteurianum, d'après l'illustre savant qui a frayé la voie dans ce domaine. Quoique les deux espèces aient sans doute été souvent confondues jusqu'ici, il est cependant très vraisemblable que M. Pasteur et les autres naturalistes n'ont compris sous le nom de Myc. aceti que l'espèce qui se colore en jaune.

Comme autre moyen de vérification, je résolus de rechercher comment les deux espèces se comporteraient dans le moût de bière pris pour liquide nourricier. Je me suis servi pour ces expériences en partie de ballons Pasteur à deux cols, en partie de flacons remplis au $^1/_4$ de moût houblonné filtré rendu stérile par une ébullition prolongée. Les flacons furent traités comme on l'a expliqué plus haut p. 50. J'ai employé ces derniers plus souvent que les ballons, parce que l'air y a un plus facile accès et que les mycodermes y donnent par suite une végétation plus vigoureuse. En ayant soin, chaque fois, de ne prendre que ceux qui avaient séjourné longtemps dans le thermostat et, dont je savais avec certitude que le contenu était complètement stérilisé, j'y semai séparément, avec toutes les précautions que M. Pasteur nous a enseignées, des chaînes types des deux espèces, après quoi les ballons furent fermés avec leurs bouchons de verre respectifs et les flacons avec du papier à filtrer, et les uns et les autres exposés dans le thermostat à la température de 32° C. environ. De même que dans les cas précédents, les deux espèces se sont maintenues nettement séparées et ont montré les formes représentées Fig. 60—70. Dans les végétations appartenant au Myc. Pasteurianum, non-seulement les chaînes et les articles isolés, mais aussi tous les corps filiformes sans exception présentaient la réaction caractéristique avec l'iode. Il y a donc tout lieu de croire que toutes ces formes différentes entre elles appartiennent à un même cycle d'évolution, et il n'est certainement pas téméraire de supposer qu'on peut en dire autant des formes du Myc. aceti.

Mais pour avoir une preuve clomplète que les corps filiformes ont la même origine que les chaînes, il faut observer directement le passage d'une forme à l'autre; or, c'est ce qu'on ne peut faire avec les cultures précédentes, mais seulement en cultivant un exemplaire isolé dans une chambre humide, et les difficultés particulières que présente cette expérience, surtout avec des Mycodermes, sont cause que je n'ai pas réussi jusqu'ici à l'exécuter (voir à ce sujet Pl. II, Fig. 67—69 et l'explication des planches).

La coloration bleue du Myc. Pasteurianum se produit non-seulement avec des cristaux d'iode, mais aussi lorsqu'on verse sur la préparation diverses solutions d'iode, par exemple de l'iodure de potassium. On observe alors constamment sur les bords de la combinaison

iodée un anneau coloré en bleu, tandis que la partie intérieure se colore successivement en vert, en jaune et en brun, et ce qui, à un moment donné, était bleu devient un moment après jaune et puis brun, à mesure que la solution d'iode poursuit sa marche en avant. Dans la phase où les cellules ont pris une teinte jaune ou brune, il n'est pas possible de déterminer si elles appartiennent au Myc. aceti ou au Myc. Pasteurianum. En comprimant assez fortement une préparation de cette dernière espèce colorée en bleu par l'iode, de manière que les lames couvre-objet et porte-objet frottent l'une contre l'autre, on obtient en général des membranes aplaties, minces et d'une belle couleur bleue; on ne trouve plus alors de cellules bleues, mais seulement des cellules jaunes et brunes qui, ayant été exposées plus longtemps à l'action énergique de l'iode, sont devenues plus fermes et plus résistantes et ont pu supporter une pression plus forte que les premières. La coloration bleue suppose donc que la dissolution d'iode a une certaine concentration et n'agit pas trop longtemps.

La substance bleue qui se produit en présence de l'iode ou d'une combinaison iodée s'accorde, outre la couleur, sous plusieurs rapports avec l'iodure d'amidon. Elle est ainsi décolorée par l'ammoniaque, la soude ou le bichlorure de mercure, comme aussi lorsque, après y avoir ajouté un peu d'eau distillée, on l'expose pendant quelques moments à l'action directe de l'air. Ces réactions sont celles d'un amylum ou d'une espèce de cellulose qui se rencontre fréquemment dans le groupe des Ascomycètes, dans les paraphyses et les asci, et que j'ai moi-même observée chez quelques espèces nouvelles des genres Ascophanus et Saccobolus, que j'ai décrites dans le temps dans mon mémoire sur „les champignons stercoraires du Danemark". Parmi les Bacilles, M. Trécul en a découvert une espèce, le Bacillus Amylobacter, dont les articles cylindriques, dans certaines phases de son développement, renferment des dépôts d'une substance qui rappelle l'amidon et est colorée en bleu ou en violet par l'iode. Plus tard M. Fitz a trouvé un bacille qui est en partie coloré en violet ou en noir par le même réactif, et qui semble devoir être rangé dans l'espèce précédente. Je n'ai pas du reste, chez les bactéries, trouvé d'exemples de cette remarquable réaction chimique.

La bière de garde de Carlsberg et le Carlsberg-beer conservent leur limpidité et leur couleur lorsqu'ils sont recouverts d'une membrane exclusivement composée de Myc. Pasteurianum, et le liquide a alors une odeur marquée d'acide acétique. Sous ce rapport, l'espèce nouvelle est donc identique avec le Myc. aceti.

C'est dans la bière blanche et la double bière douce de Copenhague que j'ai pour la première fois observé le Myc. Pasteurianum, et, d'après mes recherches, il semble se plaire surtout dans les bières qui renferment relativement beaucoup d'extrait et peu d'alcool. Il se développe certainement aussi avec plus de facilité dans le moût de bière que l'espèce voisine, le Myc. aceti. J'ai le plus souvent trouvé ce dernier dans les bières basses riches en alcool et également dans le vinaigre, mais n'ai jamais, dans ces liquides, rencontré une végétation spontanée de Myc. Pasteurianum. Mes essais de culture ont

montré que les deux espèces peuvent se développer soit dans le moût de bière soit dans la bière haute et basse.

En résumé:

1. Le Myc. aceti et le Myc. Pasteurianum sont deux ferments figurés qui morphologiquement ne peuvent se distinguer l'un de l'autre, et qui par suite ont certainement été confondus jusqu'ici. Mais, sous le rapport des propriétés chimiques, ils présentent une différence bien tranchée, ce dernier étant coloré en bleu par l'iode tandis que le premier l'est en jaune.

2. Les formes appartenant à chaque espèce comprennent nonseulement les chaînes types décrites par M. Pasteur, avec leurs articles souvent en forme de sablier, mais aussi des corps irréguliers filiformes, en un mot toutes les formes représentées Fig. 60—70. C'est ce que confirment à la fois leur apparition simultanée, la présence de formes de transition, mes essais de culture et la réaction chimique commune; celli-ci a une importance spéciale, notamment quant aux formes qui se colorent en bleu, parce que cette coloration n'a pas été observée jusqu'ici chez d'autres bactéries dans la bière ni le moût de bière.

Explication des Planches.

(Les fractions indiquent le grossissement).

Planche I.

Oidium lactis Fres. Fig. 1—19, p. 72 et 75—81.

1. Hyphes fourchues à leur sommet et dont les rameaux latéraux commencent à se développer. Habitus dessiné à l'aide de l'objectif D. D. de Zeiss.

2. $\frac{620}{1}$. Deux extrémités d'hyphes, dont l'une montre une dichotomie à son début, et l'autre est en train de développer un article sphérique.

3—5. Quatre conidies avec des tubes germinatifs, dessinées à l'aide de l'objectif D. D. de Zeiss. 3. Tout le protoplasma a passé dans l'extrémité du tube germinatif, qui a commencé à se diviser en conidies. 4. La conidie a poussé un petit tube germinatif et un autre plus grand qui s'est divisé près de son origine. Dans aucun de ces deux cas le tube germinatif n'a augmenté de longueur ni ne s'est ramifié. 5. Deux conidies qui ressemblent à des cellules de levûre et qui poussent chacune deux tubes germinatifs.

6—6'''. $\frac{620}{1}$. Germination d'une conidie, représentée dans plusieurs de ses phases. 6. La conidie semée dans du moût houblonné

filtré clair dans la chambre de Ranvier, à 10 h. 1/2 du matin. 6'. La même à 2 h. de l'après-midi. Elle est non-seulement devenue un peu plus grande, mais porte aussi à ses deux bouts une saillie en forme de verrue qui est le commencement d'un tube germinatif; celui-ci est la continuation directe de la conidie mère, dont les parois ne présentent par conséquent aucune rupture. 6''. La même à 4 h. 1/2 de l'après-midi. Les tubes germinatifs se sont allongés et la conidie renferme des vacuoles. 6'''. La même à 7 h. 3/4 de l'après-midi. La conidie et les tubes germinatifs ont pris un plus grand accroissement; ces derniers sont divisés par des cloisons transversales et on aperçoit les premiers vestiges d'une ramification.

7. $\frac{1180}{1}$. Conidie irrégulière, anguleuse, qui a poussé un tube germinatif et renferme elle-même des vacuoles.

8. Faible grossissement. Végétation d'Oidium lactis sur une tranche cuite de carotte. Elle a ici un aspect particulier, et est formée de corps coniques relativement épais à la base et jaunâtres, avec des pointes souvent foncées.

9. Faible grossissement. Végétation semblable, également sur une tranche cuite de carotte. 6 jours après l'ensemencement, celle-ci était recouverte d'une forêt de corps blanchâtres ou jaunâtres plus ou moins coniques, dont les proportions et la forme étaient du reste très variables: la pointe en était quelquefois recourbée en crochet, *a*, d'autres fois étirée en un fouet mince, *b*, ou divisée en plusieurs branches, *c*, *d*, *e*, et on voyait assez souvent deux de ces corps réunis par des anastomoses, *f*. Ils étaient garnis en partie de poils fins isolés, *a*, *b*, *c*, *d*, *f*, en partie d'un feutre blanc épais, *e*, qui dans quelques cas était limité à la pointe, où il formait comme une aigrette, *g*. Entre ces corps il y avait des plis blanchâtres, faiblement brillants, un peu mucilagineux, *h*, d'où les germes des corps coniques s'élevaient comme de petites verruciformes.

10. Faible grossissement. Végétation semblable, mais sur du pain sans levain; les corps coniques sont ici gélatineux, grisâtres, mais, dans la plupart des cas, garnis d'un fin feutre blanc de la même espèce que celui qui est à leur base.

11—14. $\frac{620}{1}$. Formes anormales qui, par suite d'une alimentation incomplète, n'ont apparu qu'après une culture prolongée dans la chambre de Ranvier. 11. Hyphe qui a poussé deux rameaux, dont le plus bas est terminé par deux cellules ovales qui rappellent le Saccharomyces. 12. Hyphe qui a également deux rameaux, mais dont l'un s'est ramifié et est terminé par une très grande cellule pyriforme. 13. Hyphe avec un rameau primaire terminé par une cellule tout à fait anormale, qui d'une base ovale assez grande émet un prolongement digitiforme. Du rameau primaire en part un secondaire dans une direction opposée. 14. Partie d'une hyphe avec un rameau qui, à son origine, a une cellule pyriforme surmontée de deux cellules normales rectangulaires et d'une cellule sphérique.

15—16. Deux parties d'hyphes avec des conidies interstitielles; celles-ci seulement sont remplies de protoplasma, tandis que les autres cellules sont vides. Les premières sont indiquées par une teinte plus foncée. Elles se sont développées en partie sur des tranches de ca-

rottes, en partie dans des chambres humides. Dessinée à l'aide de l'objectif D. D. de Zeiss.

17. $\frac{620}{1}$. Chaîne de conidies en train de germer.

18. $\frac{620}{1}$. Conidies qui ont séjourné longtemps dans de l'eau sucrée; leur contenu se compose de corps fortement réfringents (gouttes huileuses), et les parois en sont très distinctes.

19. $\frac{1180}{1}$. Conidies provenant d'une culture continuée pendant longtemps dans une décoction de carottes: leur contenu s'est retiré des parois et se présente en partie comme un amas granulé, jaunâtre avec quelques grains fortement réfringents, *a*, en partie sous forme de sphéroïdes très fortement réfringents (gouttes huileuses), *b*. Dans tous les cas, les parois sont très distinctes, à l'opposè de ce qui a lieu chez les jeunes conidies. Elles peuvent en général prendre un aspect analogue lorsqu'on les cultive dans un milieu qui n'est pas suffisamment nutritif, et lorsqu'elles deviennent vieilles.

Chalara Mycoderma Cienk. Fig. 20—28, p. 72.

20. $\frac{620}{1}$. Hyphe ramifiée dont les articles terminaux se divisent en conidies (provenant d'une membrane sur une infusion végétale).

21. $\frac{620}{1}$. Hyphe dont la cellule terminale développe une conidie. De la cellule située derrière, dans la partie contiguë à la cloison, sort un court sterigme terminé en pointe, qui développe des conidies (Cette figure et les suivantes sont dessinées d'après une végétation sur du moût de bière, ensemencé avec des conidies provenant de fumier de vache).

22. $\frac{1180}{1}$. Article rectangulaire d'hyphe qui, dans deux de ses angles, est en train de développer des conidies.

23. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe qui d'une de ses extrémités légèrement pointue, développe deux conidies pyriformes.

24. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe qui, d'une de ses extrémités, développe trois conidies, dont deux au sommet et la troisième un peu en dessous.

25. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe pyriforme qui, de sa partie mince, est en train de développer une conidie ovale.

26. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe allongé, ovale, avec un prolongement en forme de col, d'où se développe une conidie anormale.

27. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe court, rectangulaire, qui, à une de ses extrémités, a commencé à produire une conidie.

28. $\frac{1180}{1}$. Article d'hyphe ovale qui, de chacune de ses extrémités, développe une conidie presque sphérique.

Saccharomyces cerevisiae Meyen. Fig. 29—30, p. 72.

(Cultivé sur du plâtre d'après la méthode de M. Engel).

29. $\frac{1180}{1}$. Cellule cylindrique, renfermant trois spores, dont le contenu est coloré en jaune par l'iode; les parois en deviennent alors bien distinctes.

30. $\frac{1180}{1}$. Cellule cylindrique renfermant deux spores, et communiquant avec une cellule claviforme, dont l'extrémité large contient



une spore. La forme des cellules mères se rapporte au Sacch. Pastorianus, mais les spores au Sacch. cerevisiæ.

Saccharomyces Mycoderma (Pers.?) Reess. Fig. 31, p. 73.

31. $\frac{1180}{1}$. Vieilles cellules contenant chacune deux vacuoles, dans lesquelles on trouve d'ordinaire un amas de petits corps fortement réfringents qui ressemblent beaucoup à des cristaux.

Planche II.

Cellules colorées en rouge et ressemblant à des Saccharomyces. Fig. 1—37, p. 81—88.

1—3‴. $\frac{620}{1}$. Trois séries d'évolution de cellules bourgeonnantes. Les observations ont été faites en poursuivant l'examen de cellules isolées dans les chambres de Ranvier à tubes d'air, et avec du moût houblonné filtré comme liquide nourricier. 1. 1 h. 1/4: colonie de cellules où la cellule mère a deux tubes germinatifs courts et terminés en pointe et deux points végétatifs, dont l'un au sommet d'un des tubes germinatifs et l'autre à l'extrémité opposée, en forme de coupole, de la cellule; chacun d'eux à développé une cellule fille. 1′. 2 h. 1/4: la cellule fille supérieure a, de son sommet en forme de coupole, poussé un bourgeon dont le premier germe visible s'est montré à 1 h. 1/2. La cellule fille inférieure a grossi. 1″. 2 h. 1/2: celle-ci s'est maintenant détachée de la vieille cellule mère; le dernier bourgeon a beaucoup grossi. 1‴. 3 h. 3/4: la vieille cellule mère est revenue dans la même phase qu'au début de l'observation; la cellule fille du tube germinatif est la même et son bourgeon complètement développé est devenu libre; mais, à l'extrémité en forme de coupole de la cellule mère, est née une nouvelle cellule fille. — Les mêmes phases de développement se répètent alors de 1′ à 1‴ et les mêmes points végétatifs sont utilisés; on a ainsi des cycles qui reviennent toujours et ce n'est que relativement à leur durée qu'il se produit des irrégularités. 2. 1 h. 1/4: une cellule ovale avec un tube germinatif court et terminé en pointe a poussé un petit bourgeon à son sommet. 2′. 2 h. 1/4: le bourgeon a grossi. 2″. 3 h.: il est sur le point de devenir libre. 2‴. 3 h. 1/2: répétition de la phase 2. — Du même point, sur son sommet, la vieille cellule mère a continué, pendant 24 heures, de pousser l'un après l'autre des bourgeons ayant la même forme et la même évolution. Il s'écoulait 1 1/2—3 heures depuis le moment où le bourgeon se montrait jusqu'à celui où, devenu une cellule complète, il était rejeté un peu de côté par un nouveau bourgeon et se détachait de la cellule mère; celle-ci avait ainsi, en 12 heures, donné naissance à 5 nouvelles cellules. 3. 2 h. 1/2: cellule avec un tube germinatif court et épais, qui est fendu et se termine en deux pointes. 3′. 3 h.: sur l'une d'elles pousse un bourgeon. 3″. 3 h. 1/2: ce dernier poursuit son évolution. 3‴. 4 h. 3/4: la cellule nouvellement formée est devenue libre, et la cellule mère est

revenue à la phase 3. — Puis se reproduisent les phases 3′, 3″, 3‴ etc.

4—7. $\frac{620}{1}$. Cellules qui non-seulement ont développé des tubes germinatifs, mais sont aussi en train de se multiplier par bourgeonnement. Pour obtenir ces formes, on sème les cellules dans un liquide fermentescible (moût de bière, moût de raisin), après les avoir cultivées sur du plâtre suivant la méthode d'Engel jusqu'à l'apparition des tubes germinatifs. Dans la Fig. 7, tout le protoplasma de la cellule mère est, à travers le tube germinatif, passé dans le bourgeon nouvellement formé.

8—29. $\frac{620}{1}$. Cellules d'un aspect très différent et dont les tubes germinatifs présentent un développement varié. Dans la Fig. 8 on voit une cellule dont le protoplasma est passé dans l'extrémité arrondie du tube germinatif. La Fig. 11 représente une cellule provenant d'une vieille culture sur du plâtre; le tube germinatif est fendu au sommet et muni d'une cloison. La Fig. 13 offre l'exemple d'un tube germinatif qui pousse un bourgeon au-dessous de son extrémité. Dans la Fig. 14, le tube germinatif est renflé au milieu en forme de bourgeon. Les Fig. 17—18 se distinguent par leurs singuliers tubes germinatifs; la dernière en a deux, dont un très pointu. Une cellule avec deux tubes germinatifs, dont un fendu, est représentée Fig. 20; on n'a pu en observer les parois avec l'objectif employé (Zeiss F.), et le tout a par suite un aspect d'amœbe. Les tubes germinatifs longs et ramifiés se produisent de préférence dans les vieilles cultures faites sur du plâtre; c'est ce que montre la Fig. 26. La Fig. 29 représente une cellule qui a poussé non-seulement un bourgeon, mais aussi trois tubes germinatifs, dont l'un est ramifié.

30—31. $\frac{620}{1}$. Cellules bourgeonnantes.

32. $\frac{1180}{1}$. Cellule avec un tube germinatif qui, de sa base très épaisse, pousse des rameaux; peut-être y a-t-il un mélange étranger.

33. $\frac{1180}{1}$. Cellule ovale dont le tube germinatif porte un gros bourgeon qui pousse un tube germinatif court et pointu. La cellule mère et le bourgeon sont l'un et l'autre pourvus de vacuoles, et ce dernier renferme en outre un granule fortement réfringent.

34. $\frac{1180}{1}$. Cellule ovale qui a poussé non-seulement un assez long tube germinatif terminé en pointe, mais aussi un bourgeon; le tout est rempli d'un protoplasma granulé.

35—35‴. $\frac{620}{1}$. Cellule bourgeonnante; une évolution. Culture dans la chambre de Ranvier avec du moût houblonné filtré comme liquide nourricier. 35. 10 h. ½; 35′. 11 h.; 35″. 11 h. ½; 35‴, 12 h. ½.

36. $\frac{620}{1}$. Grandes et petites cellules, dont quelques-unes bourgeonnantes.

37. $\frac{1180}{1}$. Groupe de cellules, dont l'une est sur le point de pousser un bourgeon; plusieurs renferment des granules fortement réfringents.

Saccharomyces coloré en rouge recueilli sous les cerisiers. Fig. 38—41, p. 81—88.

38—38′. $\frac{620}{1}$. Cellule bourgeonnante dans du moût houblonné filtré, cultivée dans la chambre de Ranvier; 38. 2 h. 1/2; 38′. 5 h.

39—39′. $\frac{620}{1}$. Cellule bourgeonnante; même culture que la précédente; 39. 8 h. 1/2; 39′. 9 h.

40. $\frac{620}{1}$. Colonie de cellules.

41. $\frac{620}{1}$. Cellules provenant d'une culture sur du plâtre. Par suite d'une alimentation incomplète, il s'est formé dans leur intérieur des corps sphériques fortement réfringents, qui sont solubles dans l'éther absolu et doivent être considérés comme des masses graisseuses. Ils peuvent quelquefois être facilement confondus avec des ascospores, et cette confusion a certainement aussi eu lieu pour d'autres espèces.

Saccharomyces glutinis (Fres.) Cohn. Fig. 42—44, p. 81—88.

42—42‴. $\frac{620}{1}$. Cellule bourgeonnante dans du moût houblonné filtré, cultivée dans la chambre de Ranvier; 42. 10 h.; 42′. 11 h. 1/2; 42″. 1 h. 1/4; 42‴. 1 h. 3/4.

43—43″. $\frac{620}{1}$. Culture semblable. 43. 11 h. 1/2: une cellule mère avec deux cellules filles. 43′. 1 h. 1/4: la cellule fille à gauche est devenue libre et a elle-même poussé un bourgeon; l'autre cellule fille a un peu grossi. 43″. 2 h.: cette dernière s'est aussi détachée de la cellule mère, qui est déjà en train de pousser un nouveau bourgeon.

44. $\frac{620}{1}$. Cellule bourgeonnante provenant d'une culture sur du plâtre. La cellule mère est pourvue d'une grande vacuole, et dans le protoplasma environnant se trouve un granule fortement réfringent (noyau cellulaire de Cohn?); le bourgeon en renferme deux semblables.

Micrococcus. Fig. 45, p. 75.

45. $\frac{1180}{1}$.

Sarcina. Fig. 46, p. 75.

46. $\frac{1180}{1}$. Dans quelques cas, les groupes ne se composent que de 3 ou de 2 corps sphériques; *a* représente un groupe qui en renferme 6 et *b*, un groupe qui en contient le nombre normal, mais où les deux articles ont été un peu écartés l'un de l'autre par suite de la pression de la lame couvre-objet.

Micrococcus (forme Torula). Fig. 47, p. 75.

47. $\frac{1180}{1}$.

Bacterium pyriforme. Fig. 48—49, p. 74.

48. $\frac{1180}{1}$.

49. $\frac{1180}{1}$. Chaîne appartenant sans doute à l'espèce précédente.

Microbactéries. Fig. 50—52″, p. 74.

50. $\frac{1180}{1}$. Microbactéries en forme de sablier. Elles rappellent sous quelques rapports de très petits exemplaires de Mycoderma, mais ne forment pas des chaînes comme ceux-ci; elles sont du reste identiques avec les suivantes et présentent en réalité toutes les formes possibles de transition.

51. $\frac{1180}{1}$.

52—52″. $\frac{1180}{1}$. Une évolution. Les exemplaires représentés ici ont été cultivés dans les chambres de Ranvier à tubes d'air, avec du moût houblonné filtré comme liquide nourricier. Ils ont d'abord un peu grossi, Fig. 52; 1 h. ½ plus tard, deux d'entre eux s'étaient séparés l'un de l'autre, tandis que les deux autres s'étaient seulement préparés à le faire en exécutant une petite inflexion, Fig. 52′; ¼ d'heure après, chacune des deux cellules devenues libres avait non-seulement grossi, mais s'était divisée en deux, Fig. 52″. Ces divisions se sont ensuite répétées, de sorte qu'au bout de quelques heures il s'était produit un nombre assez considérable de bactéries. Cette forme peut, d'après mes observations, décolorer le moût et la bière de garde de Carlsberg, lesquels perdent leur belle couleur brune et deviennent jaunâtres et troubles.

Bacterium fusiforme Warm. Fig. 53, p. 74.

53. $\frac{1180}{1}$.

Bacterium Kochii. Fig. 54, p. 74.

54. $\frac{1180}{1}$. *a* représente un exemplaire où la cellule est en train de se diviser; les parois en sont distinctes de même que chez les autres, et je suppose qu'elles appartiennent toutes à une seule espèce.

Bacterium Carlsbergense nov. sp. Fig. 55, p. 74.

55. $\frac{1180}{1}$.

Spirillum tenue Ehrb. Fig. 56—57, p. 73.

56. $\frac{1180}{1}$. Cette figure ne représente que des fragments de l'espèce en question; plusieurs ont la forme d'un fer à cheval, et les Fig. *a* et *b* offrent des exemples de division transversale.

57. $\frac{1180}{1}$. Beaux exemplaires en spirale de la même espèce.

Bacillus subtilis (Ehrb.) Cohn. Fig. 58—59, p. 73.

58. $\frac{1180}{1}$. Les Fig. *a* représentent quelques articles avec des spores et la Fig. *b*, une spore germante.

59. $\frac{620}{1}$. Long fil enroulé en anneaux.

Mycoderma aceti (Kütz). Pasteur et Myc. Pasteurianum nov. sp. Fig. 60—70, p. 73 et 96—100.

60. $\frac{1180}{1}$. Chaînes courtes et longues de Mycoderma Pasteurianum. On voit que les articles d'une même chaîne peuvent différer beaucoup entre eux sous le double rapport de la grandeur et de la réfringence; ceux dont les contours sont plus marqués étaient les plus brillants; *a* montre un exemple d'une chaîne formée d'articles fortement réfringents qui est terminée par un fil faiblement recourbé et un peu renflé; *b* représente une chaîne composée de quatre articles, dont le plus grand, au milieu, est sur le point de se diviser; les trois autres, de formation récente, ne s'étaient pas encore allongés. Les figures sont dessinées d'après une préparation colorée en bleu par l'iode.

61. $\frac{1180}{1}$. Deux chaînes de Myc. Pasteurianum colorées en bleu par l'iode.

62. $\frac{1180}{1}$. Articles isolés de la même espèce.

63. $\frac{1180}{1}$. Cellules relativement grandes dont les parois sont bien distinctes; elles sont accompagnées d'exemplaires types de Myc. Pasteurianum, et l'iode les colore également en bleu. Une des cellules renferme à chacune de ses extrémités un petit corps rond fortement réfringent.

64. Phases filiformes et fusiformes des deux espèces de Mycodermes. On voit ici des exemples des formes souvent étranges sous lesquelles ils peuvent se présenter. Dans *a* un tube s'est, sur une courte étendue divisé en articles en forme de sablier suivis d'un article relativement très long; *b* représente deux corps fusiformes, *c*, une partie d'un fil qui est en train de se diviser; il en est de même de *d*, mais le tout a ici un aspect très irrégulier; *e* représente une partie d'une chaîne qui est terminée par un très grand article claviforme; *f* est sans doute un article semblable, mais devenu libre. En *g* est représenté un fil fortement renflé sur une assez grande étendue et renfermant un protoplasma granulé; avec un certaine disposition du microscope, il semble presque, comme le croit M. Nægeli, qu'on a affaire à une chaîne de Torula, mais un examen plus attentif montre que cette opinion est erronée. Le fil *h* est renflé aux deux bouts mais divisé en articles au milieu. En *i* on voit deux fils qui, sur une assez grande étendue, se sont divisés en articles très différents de forme et de grandeur. La figure *j* représente une chaîne composée d'articles irréguliers, quelquefois pyriformes, et provenant de la division d'un fil: *k* et *l* sont deux fragments d'une seule et même chaîne; les longs articles qui s'y trouvent montrent qu'elle doit également son origine à un des fils susmentionnés. J'ai, p. 96—98, exposé les motifs qui m'ont porté à considérer toutes les formes représentées Fig. 64 comme appartenant à la même espèce que les chaînes types de Mycoderma. Les figures *e*, *f*, *i*, *k*, *l* et quelques-unes de celles qui ne sont pas marquées d'une lettre, sont très fortement grossies; pour les autres, j'ai comme d'ordinaire employé le grossissement de 1180.

65. Très fort grossissement. Chaîne dont les articles inférieurs proviennent d'une division récente et, par suite, ont encore une forme

presque sphérique; les articles supérieurs ont commencé à se rétrécir au milieu et à prendre la forme d'un sablier.

66. $\frac{1180}{1}$. Courte chaîne dans laquelle les deux articles du milieu renferment chacun un corps fortement réfringent (spore?).

67—67″. $\frac{1180}{1}$. Chaîne de Myc. Pasteurianum composée de quatre articles et en train de se diviser. La culture a été faite dans une chambre humide pourvue de tubes à air, avec de la bière de garde de Carlsberg comme liquide nourricier: mais, avant d'y semer les cellules, on les a fait sécher pendant quelques instants sur une lame couvre-objet pour les fixer et rendre ainsi l'observation plus facile. 67. 4 h.: les quatre cellules sont en ligne droite et ont seulement commencé à se rétrécir un peu au milieu. 67′. 8 h. ½: le rétrécissement n'a pas fait de nouveaux progrès, mais les cellules se sont allongées et ont changé de position par rapport les unes aux autres. 67″. 11 h.: trois cellules se sont divisées, mais la quatrième n'a subi aucun changement.

68—68‴. $\frac{1180}{1}$. Evolution semblable à la précédente avec le même traitement, 68. 1 h. ½: les trois articles sont en ligne droite; l'un d'eux est plus réfringent que les deux autres. 68′. 6 h. ½: cet article ne s'est pas modifié, mais chacun des deux autres s'est divisé en deux articles disposés à angle droit. 68″. 8 h. ½: l'article fortement réfringent n'a subi aucun changement; les trois suivants se sont un peu allongés et le quatrième s'est divisé. 68‴. 10 h.: l'article fortement réfringent est toujours dans le même état; les trois suivants se sont chacun divisés en deux; il y a maintenant en tout neuf articles et la courte chaîne qui a servi de point de départ s'est transformée en un groupe.

69—69‴. $\frac{1180}{1}$. Evolution analogue aux deux précédentes avec la même culture. 69. 4 h. de l'après-midi; 69′. 9 h. ½ du soir; 69″. 9 h. du matin le lendemain.

70. Très fort grossissement. Chaîne anormale composée d'articles d'aspect très différent: fortement réfringents, presque sphériques, ovales, cylindriques, mats, gris et l'un d'eux en forme de sablier avec des parois assez distinctes.

71. $\frac{1180}{1}$. Formes mentionnées dans le texte danois p. 234; celles marquées *a* ont été observées dans du porter, et celles marqués *b*, dans de la bière blanche.

Recherches sur les ferments producteurs de sucre.

Par
M. J. Kjeldahl.

Par fermentation on entend, comme on sait, une transformation ou une décomposition d'un corps en deux ou plusieurs autres, sous l'action d'une substance particulière qui porte le nom de ferment. Tandis que de grandes quantités de ce corps sont ainsi décomposées, le ferment lui-même semble ne subir aucun changement sensible. Son action, qui, dans le voisinage de 0°, est en général presque nulle, augmente avec la température jusqu'à un certain optimum, pour décroître ensuite lorsque cette limite est dépassée, et elle est complètement et définitivement détruite avant qu'on atteigne 100°. Cette propriété appartient à une classe spéciale de corps organiques azotés, voisins des substances albuminoïdes, dont ils diffèrent pourtant sous plusieurs rapports essentiels; du reste, nous sommes aussi ignorants de la constitution chimique de ces corps que de la cause des décompositions qu'ils provoquent. Les deux ferments principaux sont la levûre, qui transforme le sucre en alcool et en acide carbonique, sans compter divers produits secondaires, et la diastase, qui décompose l'amidon en sucre et en dextrine.

Les ferments organiques se divisent en deux grandes groupes qui possèdent bien en commun les caractères généraux que nous venons de mentionner, mais qui du reste diffèrent tellement entre eux que c'est peut-être à tort qu'on les a réunis sous la même dénomination. Dans le premier groupe, celui des fermentations proprement dites, l'activité fermentative est liée à des organismes cellulaires vivants, dont la présence et le développement dans le liquide sont des conditions nécessaires pour que la fermentation se produise (ferments organisés, figurés, vivants). Les ferments du second groupe (ferments non organisés, amorphes, ferments chimiques) sont de véritables sécrétions des cellules d'où ils tirent leur origine; on les en extrait avec de l'eau et la solution manifeste des propriétés fermentatives même après être devenue tout à fait claire par la filtration. La levûre est le type

des ferments du premier groupe, et la diastase, celui des ferments du second.

L'étude des phénomènes de la fermentation, des rapports entre le ferment vivant et l'activité fermentative, présente de grandes difficultés, parce que nous abordons ici des questions relatives aux fonctions vitales et surtout à la nutrition, et que la réaction chimique qui accompagne la fermentation est compliquée et sans doute soumise à des variations. A cet égard, les ferments solubles nous offrent des conditions bien plus favorables; nous nous trouvons en face d'une question purement chimique, et quoique ces ferments soient des produits de la vie végétale, leur action n'est cependant liée à aucune activité vitale. C'est l'action d'une dissolution claire sur certains corps que nous nous proposons d'étudier; les facteurs qui peuvent y jouer un rôle déterminant sont en réalité peu nombreux, et leur influence se laisse facilement contrôler. Le travail que nous résumons ici est consacré à une étude systématique de deux de ces ferments solubles, à savoir la diastase et la ptyaline (diastase de la salive); mais en raison de l'intérêt bien plus grand qu'il présente, notamment pour le laboratoire de Carlsberg, le premier a été traité avec beaucoup plus de détail que le second, qui a surtout été choisi pour servir de terme de comparaison.

La réaction remarquable qui a lieu lorsqu'on fait agir de l'extrait de malt sur l'amidon a déjà depuis longtemps attiré l'attention des chimistes. Pour expliquer cette action, qui en même temps a une si grande importance industrielle, il a été publié un grand nombre de travaux, mais dont beaucoup ont donné les résultats les plus opposés.

Un des principaux points contestés était de savoir si la transformation que subit l'amidon devait être considérée comme une transformation graduelle en sucre, la dextrine jouant seulement le rôle de produit intermédiaire, ou comme un dédoublement en sucre et en dextrine. C'est sur cette question que roulait, entre autres, le débat si souvent cité entre MM. Musculus et Payen, qui s'est poursuivi à partir de 1860 dans les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Payen regardait la transformation comme graduelle, et attribuait l'arrêt de la réaction à l'accumulation du sucre produit, lorsqu'il s'en était formé 50 % environ. Musculus avait d'abord limité ce maximum à 37 %, mais l'a porté plus tard à 50 % comme Payen; selon lui, on a affaire à un dédoublement en sucre et en dextrine avec hydratation, suivant une équation déterminée, et la diastase est sans action sur la dextrine. Mais depuis que M. Bondonneau a fait remarquer qu'il se produit plusieurs dextrines différentes qui sont intermédiaires entre l'amidon et le sucre, et que M. Musculus lui-même, conjointement avec M. Gruber, a constaté la présence de plusieurs espèces de dextrines (dont l'existence comme corps chimiquement individualisés doit cependant paraître un peu incertaine), l'auteur de cette dernière théorie

l'a modifiée en ce sens, qu'il admet une série de dédoublements accompagnés d'hydratation, dont chacun donne lieu à la production d'une certaine quantité de sucre et d'une nouvelle dextrine qui s'écarte davantage de l'amidon.

M. Schwarzer (1870) a la premier observé l'influence de la température sur la réaction qui nous occupe, et a trouvé qu'il ne forme 50—53 % de glucose entre 60 et 65°, 27 % seulement à 70° et de 53 à 27 % entre 65 et 70°. La même question a été traitée par M. O'Sullivan, qui, dans une série de brillants travaux, a grandement contribué à éclaircir beaucoup de points obscurs dans ce domaine. Nous citerons, entre autres, sa nouvelle découverte de la maltose, observée en 1846 par Dubrunfaut, et son étude approfondie des propriétés de cette substance et de la dextrine. En déterminant exactement les pouvoirs réducteur et rotatoire de ces deux corps (respectivement R = 65 et 0; $(\alpha)_D$ = 136° et 193°), il s'est vu à même d'en donner une détermination et chimique et optique, et de fournir à leurs analyses un contrôle qui leur avait manqué jusqu'alors. Il établit 3 intervalles de température dans les limites desquelles la réaction doit être la même et avoir lieu conformément aux équations suivantes:

Au-dessous de 63°: $C^{18}H^{30}O^{15} + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + C^6H^{10}O^5$ (1)
de 64—68 à 70°: $2(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 4(C^6H^{10}O^5)$ (2)
au-dessus de 70°: $4(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 10(C^6H^{10}O^5)$ (3)

L'éq. (1) donne 67,8 maltose et 32,2 dextrine; R = 44 ; $(\alpha)_D$ = 154°,2
— (2) — 34,5 — 65,5 — ; R = 22,4; = 173°,4
— (3) — 17,4 — 82,6 — ; R = 11,3; = 183°,3.

M. O'Sullivan explique l'action de la diastase sur l'amidon par un dédoublement suivi d'une transformation graduelle de la dextrine, laquelle peut à la longue la convertir presque complètement en maltose. Cette conversion se fait cependant difficilement, et exige par conséquent une action prolongée et une grande quantité d'extrait de malt.

Malgré ces travaux et beaucoup d'autres que nous avons passés sous silence, il semble cependant qu'il y a encore une lacune dans la série des recherches que cette question a provoquées, en ce sens qu'on n'a pas suffissamment mis en lumière tous les facteurs qui peuvent jouer un rôle dans la réaction, ni cherché à éliminer l'influence de chacun d'eux. Dans les recherches sur la diastase qui sont exposées ci-après, je me suis efforcé de combler cette lacune, et j'ai complété ce travail avec deux chapitres, dont l'un sur la mesure du pouvoir fermentatif et l'autre sur l'influence des corps étrangers sur la diastase.

Recherches sur la diastase.

Le plan de ces recherches est très simple et semble pouvoir être adopté avec avantage pour l'étude de plusieurs ferments analogues. Lorsque la diastase (extrait de malt) agit sur l'amidon et que le liquide ne renferme du reste aucun corps étranger, les 4 facteurs suivants peuvent avoir de l'influence sur le résultat:

1. La quantité d'extrait de malt employée.
2. La température à laquelle il agit.
3. La durée de son action.
4. La concentration de la dissolution.

Pour déterminer l'influence d'un de ces facteurs, il faut le faire varier, les trois autres restant constants. Veut-on, par exemple, chercher quel rapport il y a entre l'étendue de la réaction et la quantité de diastase employée, il faut faire agir des quantités variables d'extrait de malt, pendant le même temps et à la même température, sur des poids égaux d'amidon, par conséquent faire varier 1, tandis que 2, 3 et 4 restent constants. Lorsqu'on aura ainsi déterminé l'influence que la quantité de diastase, la température, le temps et la concentration exercent chacun séparément, il sera facile, en combinant les résultats trouvés, de prédire l'action de l'extrait de malt sur l'amidon dans tous les cas qui pourront se présenter. D'autres ferments, tels que la ptyaline, le ferment du pancréas et l'émulsine, qui exercent sur l'amidon une action analogue, peuvent être soumis à une recherche semblable. Celle-ci, pour pouvoir se faire, exige que, parmi les produits principaux de la fermentation, il y en ait un qui se laisse facilement déterminer quantitativement. L'action de la diastase ou de l'un des ferments susmentionnés sur l'amidon nous fournit un produit de ce genre, à savoir le sucre (maltose). Le ferment inversif de la levûre de bière, qui dédouble le sucre de canne, pourrait également être étudié par cette voie; car, avec le polarimètre, nous sommes en état de doser exactement la quantité de sucre interverti qui a pris naissance.

Une recherche tout à fait complète exigerait une détermination quantitative de tous les produits provenant de l'action du ferment. Pour la transformation de l'amidon, nous aurions ainsi à doser non-seulement le sucre, mais aussi les différentes dextrines qui résultent de cette réaction. Entreprendre une pareille recherche n'est naturellement pas possible; lorsque nous parlons ici d'une étude de la diastase, ce n'est, à vrai dire, qu'une étude du pouvoir saccharogène de ce ferment. Mais le sucre est de beaucoup le produit le plus important de l'action de la diastase sur l'amidon, et le résultat final est une transformation presque complète en sucre, de sorte que les différentes espèces de dextrines jouent surtout le rôle de produits intermédiaires. Nous pouvons donc bien nous contenter du dosage du sucre lorsqu'il s'agit d'une étude de l'action de la diastase sur l'amidon. Par contre, lorsque nous avons affaire à des ferments qui agissent sur diverses substances, et qui par suite provoquent des transformations complètement différentes, il est clair que nous ne sommes pas autorisés à appliquer à l'une de ces actions une conclusion tirée d'une autre. Considère-t-on, par exemple, le ferment du pancréas, qui agit à la fois sur l'amidon, sur les matières albuminoïdes et les matières grasses, il faudra faire de chacune de ces actions l'objet d'une analyse spéciale; il n'est pas du tout dit que la température qui convient le mieux à la transformation de l'amidon, favorise au même degré celle des matières grasses, par exemple. De même, en ce qui concerne mes recherches sur la diastase, il faut tout autant se garder d'en conclure quelque

chose relativement à la propriété que M. Gorup-Besanez a constatée chez ce ferment de transformer les substances albuminoïdes en peptones.

Je me suis donc borné, dans ce travail, à déterminer la quantité de sucre qui est produite par l'action de la diastase sur l'amidon. J'ai fait cette détermination en me servant de la propriété qu'a le liquide de réduire l'oxyde de cuivre, et les analyses ont été calculées en glucose. On en déduira donc, d'après O'Sullivan, la véritable quantité de sucre en multipliant par $\frac{3}{2}$, puisque le pouvoir réducteur de la maltose n'est que les $\frac{2}{3}$ de celui de la glucose; aussi a-t-on eu soin, à côté des résultats en centièmes mentionnés plus loin, d'indiquer fréquemment les quantités correspondantes de maltose, afin de rappeler la vraie signification de ces nombres.

Plusieurs auteurs et, dans ces derniers temps, M. Musculus entre autres, ont cependant émis l'opinion que le pouvoir réducteur n'appartient pas seulement à la maltose, mais aussi aux différentes dextrines et même à l'amidon soluble. Cette manière de voir semble, il est vrai, être en contradiction manifeste avec les travaux de M. O'Sullivan (Journal of the Chemical Society, 1876, Vol. XXX, p. 125), et j'ai moi-même eu souvent l'occasion de m'assurer de l'accord que présentent les résultats fournis par les deux méthodes optique et chimique, accord qui parle à un haut degré en faveur de la théorie de M. O'Sullivan. Mais le plan de ce travail ne comprend pas l'étude détaillée des propriétés des produits de la fermentation. Je me suis seulement servi du pouvoir réducteur que la diastase produit dans la dissolution comme d'un moyen pour étudier les propriétés de ce ferment, et, avec ce but devant les yeux, il est parfaitement indifférent qu'une partie de ce pouvoir réducteur appartienne aux dextrines ou que la maltose le possède seule. Comme je ne détermine que le pouvoir réducteur total, qui est donné directement par les analyses, les résultats de mes expériences sont tout à fait indépendants de l'issue finale de ce débat.

Les analyses qu'on trouvera mentionnées dans les pages qui suivent ont été calculées de deux manières, les unes donnant la proportion en centièmes de la glucose contenue dans la matière sèche que renferme la dissolution, grandeur que, pour abréger, nous appellerons le pouvoir réducteur (R), et les autres, la quantité totale de sucre (glucose) contenue dans un certain volume de la dissolution. Si, par exemple, ce volume est de 250 centimètres cubes et qu'il y ait 3 % de matière sèche et 1 % de sucre, le pouvoir réducteur sera R = 33 et le poids total du sucre, 2,5 grammes. L'une ou l'autre de ces déterminations est à préférer suivant les circonstances; dans la première partie de ce travail, où j'étudie le rôle que la quantité de diastase employée, la température et le temps jouent dans la production du sucre, je me suis servi de la première, comme l'influence de ces trois facteurs dépend à un haut degré de la grandeur du pouvoir réducteur. Après avoir terminé cette étude et abordé celle de la mesure de pouvoir fermentatif et de l'influence qu'exercent sur lui les corps étrangers, j'ai pu, en ayant soin seulement de maintenir le

pouvoir réducteur dans certaines limites, me contenter de la seconde détermination, le poids total du sucre, dont le dosage exige moins de travail, comme on évite ainsi celui de la matière sèche.

On détermine la matière sèche à l'aide du poids spécifique de la dissolution, en se servant du diviseur 385 donné par M. O'Sullivan, dont j'ai souvent eu l'occasion de vérifier l'exactitude (une dissolution ayant un poids spécifique de 1,02650 renfermera ainsi $\frac{2650}{385} = 6.88\,\%$ de matière sèche). Ce diviseur est commun pour la maltose et la dextrine; aussi le poids spécifique augmente-t-il à mesure qu'il se produit plus de sucre, comme le poids de la matière sèche s'accroît par l'hydratation de la dextrine, accroissement qui peut s'élever à 3—4 %.

Pour chaque expérience j'ai pris 10 gr. d'amidon (8,1 gr. après dessication à 100°), que je délayais dans un bocal en verre avec 4 parties d'eau à 40°, après quoi j'y ajoutais de l'eau bouillante, en agitant constamment le liquide avec le thermomètre jusqu'à ce que le tout fût transformé en empois. Après que la masse s'était refroidie à la température à laquelle la réaction devait avoir lieu, je mettais le bocal dans un bain-marie dont la température était maintenue un peu plus élevée. Cette différence, qui doit être de 3—4° pour les expériences qui se font aux plus hautes températures (70—80°), est presque nulle pour celles qui se font à 30—40°; avec un peu d'habitude on apprend facilement à régler la température du bain-marie de manière à obtenir le degré voulu. Lorsque plusieurs expériences doivent se faire à la même température, on peut mettre plusieurs bocaux (4) dans le même bain-marie; mais comme ceux qui sont placés au-dessus de la flamme s'échaufferaient un peu plus que ceux qui se trouvent sur les bords, on a disposé dans le bain-marie, à une petite distance du fond, une plaque mobile supportée par trois tasseaux (voir Fig. 1). Les bocaux reposant alors sur ce fond mobile, qui est entouré d'eau de tous les côtés, s'échauffent tous également.

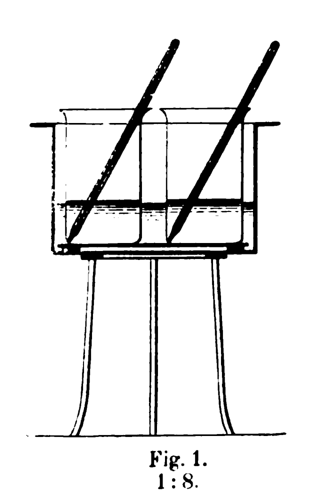


Fig. 1.
1 : 8.

Comme dissolution de diastase, je me suis toujours servi d'un extrait frais de malt touraillé préparé avec 1 partie de malt et 4 parties d'eau. Après avoir abandonné le mélange à lui-même pendant $^1/_2$—1 heure, en l'agitant fréquemment, je le versais dans une chausse; le liquide trouble qui s'en écoulait d'abord y était remis au bout de quelques heures, et j'obtenais alors une dissolution parfaitement claire. Je dosais ensuite la matière sèche et le sucre (glucose) contenus dans chaque extrait afin de pouvoir faire la correction nécessaire; les valeurs moyennes étaient 4,4 % de matière sèche et 1,7 % de sucre, ce qui correspondait à R = 38. Chaque extrait ne servait

ordinairement qu'un seul jour; mais lorsque, pour exécuter une grande série d'expériences, il était nécessaire d'employer le même extrait de malt pendant 2 ou même 3 jours, on le gardait dans de la glace, et, grâce à ce moyen, il se conservait sans la moindre altération. Je n'ai pas essayé de précipiter avec l'alcool ou un réactif analogue, de peur d'apporter par là quelque changement dans la constitution du ferment, qui est très sensible à l'action d'un grand nombre de corps étrangers.

Ce n'est que dans quelques-unes des premières séries que l'extrait de malt a été chauffé à la température de l'expérience avant d'être mélangé avec l'empois. Renonçant plus tard à ce système, j'ai maintenu l'empois à une température un peu plus élevée que celle de l'expérience, de manière que le mélange de ce dernier avec l'extrait de malt se fît juste au degré voulu (cfr. p. 121). L'heure à laquelle on opérait ce mélange était notée avec soin, et, après un certain temps, le bocal était retiré du bain-marie et mis dans un autre renfermant de l'eau bouillante, qu'on tenait tout prêt. Au bout de quelques instants, la température du liquide était portée assez haut pour détruire l'activité de la diastase, et elle s'élevait à la fin jusqu'à 93^{0}, où on la maintenait pendant quelques minutes. Après ce traitement on n'a dans aucun cas observé une action de la diastase. Le volume du liquide une fois refroidi (200 cent. cub. environ outre l'extrait de malt) était ramené à $^{1}/_{4}$ de litre.

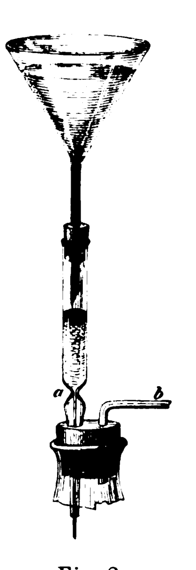


Fig. 2.
1 : 4.

J'ai déterminé le sucre (pouvoir réducteur) par des pesées aussi souvent que cela m'a été possible. Mais ayant à faire de longues séries d'expériences avec le même extrait de malt facile à s'altérer, je me suis fréquemment vu forcé par le manque de temps de me contenter d'analyses avec des liqueurs titrées, dont les résultats toutefois ont souvent été contrôlés par des analyses faites avec des pesées. Je me suis servi pour ces dernières des filtres spéciaux en asbeste introduits par M. Soxleth, lesquels sont extrêmement commodes et réduisent au minimum le temps nécessaire pour filtrer, laver et sécher. La Fig. 2 représente un de ces tubes-filtres à l'échelle de $^{1}/_{4}$; il a un diamètre de 12 millim. environ dans sa partie cylindrique, mais ne présente en *a* qu'une toute petite ouverture. L'asbeste, qu'on choisit à longs brins, est au préalable débarrassé par un lavage des parties fines qu'il contient, et, avant de s'en servir, on le lave dans le tube avec de l'eau chaude jusqu'à ce que l'eau de lavage ne renferme plus de petits filaments. Avant et après la filtration, on sèche le filtre en y versant de l'alcool et puis de l'éther, ce qui sert en même temps à détacher le protoxyde de cuivre qui est resté attaché aux parois de l'entonnoir et à la plume avec laquelle on en a retiré les derniers

restes du flacon qui a servi à la réduction. Enfin on sèche le protoxyde de cuivre dans un courant d'air sec, en ayant soin de chauffer le tube, de manière toutefois qu'on puisse le tenir avec la main. Le protoxyde de cuivre ne se suroxyde pas par là et peut être pesé comme tel; cependant, comme contrôle, on le réduisait dans un courant d'hydrogène sec, et si l'on constatait ainsi de petits écarts, les résultats étaient calculés d'après le poids du cuivre métallique. La concentration de la dissolution sucrée était de $^1/_2$ % environ, et on avait soin de n'employer qu'un faible excès, à peu près toujours le même, de la liqueur de Fehling, comme tout changement à cet égard exerce une grande influence sur le résultat. Le poids du cuivre dans chaque analyse était de 0,250 gr. environ.



Fig. 3.
1 : 5.

Pour la détermination du pouvoir réducteur par une liqueur titrée, j'employais suivant la méthode ordinaire une dissolution renfermant $^1/_2$ % de sucre, que je versais d'une burette dans la liqueur cuivreuse, qui se trouvait dans un petit flacon et était maintenue à une température très voisine de celle de l'ébullition; mais j'opérais toujours à la lumière d'une lampe, comme la fin de la réaction, lorsqu'on tient le flacon devant le globe de la lampe, est plus facile à observer qu'au grand jour. Mais le plus souvent je me servais d'une autre méthode, celle de Reischauer. Sait-on, par exemple, que la quantité de sucre contenue dans une dissolution est comprise entre 0,65 et 0,40 %, on mesure 6 portions de 5 cent. cub. chaque dans des éprouvettes de même diamètre, et on y verse respectivement 6,5 — 6,0 — 5,5 — 5,0 — 4,5 — 4,0 cent. cub. de la liqueur de Fehling; puis, après les avoir secouées et disposées sur un support convenable (Fig. 3), on les plonge dans un bain d'eau bouillante où elles restent 10—15 minutes. Au bout de ce temps, le protoxyde de cuivre s'est bien déposé et le liquide au-dessus est clair. On verra alors, par exemple, que le No. 3, avec 5,5 c. c. de la liqueur de Fehling, est encore faiblement coloré en bleu, tandis que le No. 4 avec 5,0 c. c. est jaune; la teneur en sucre sera donc comprise entre 0,50 et 0,55 %, et l'on pourra obtenir une approximation plus grande en répétant l'expérience avec des différences moindres que 0,5 c. c. entre les volumes de la liqueur de Fehling. Si l'on prend toujours pour chaque échantillon 5 c. c. de la dissolution sucrée, le nombre de centimètres cubes de la liqueur de Fehling qu'on emploie pour opérer une réduction complète donnera la proportion du sucre en dixièmes pour cent.

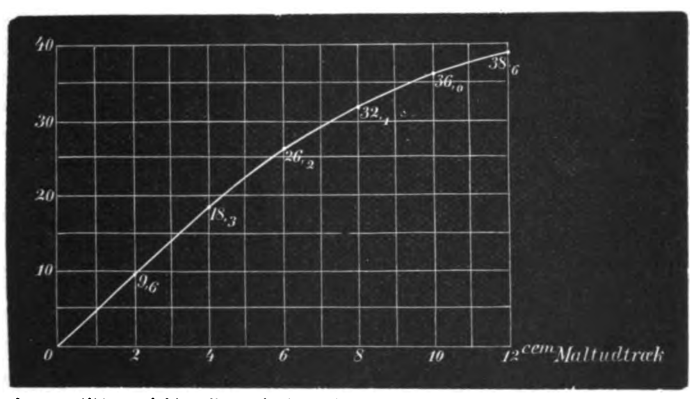
I.

Influence de la quantité de diastase employée sur la production du sucre.

Pour déterminer le rapport entre la quantité de diastase employée et celle du sucre formé, on a traité plusieurs portions d'empois, contenant chacune 10 gr. d'amidon, par différentes quantités d'extrait de malt, toutes les autres conditions restant d'ailleurs les mêmes pour les expériences de chaque série. On a opéré à la température de 57° dans la première série et à 55° dans la seconde. Le temps pendant lequel la diastase a exercé son action a été le même dans les deux séries, à savoir de 10 minutes.

1re série d'expériences.

No. des expériences	Extrait de mal en cent. cub.	Sucre en cent. cub. (après correction pour l'extrait de malt).	Matière sèche en cent. cub.	Pouvoir réducteur.
1	2	0,313	3,26	9,6
2	4	0,596	3,26	18,3
3	6	0,864	3,29	26,2
4	8	1,070	3,32	32
5	10	1,190	3,33	36
6	12	1,300	3,35	39



Action de quantités variables d'extrait de malt sur 10 grm. d'amidon pendant 10 minutes a 57°.

Pour plus de clarté, les résultats ont été représentés dans la courbe ci-dessus, dont les ordonnées sont les pouvoirs réducteurs et les abscisses, les volumes en centimètres cubes de l'extrait de malt.

On voit que cette courbe est d'abord presque une ligne droite, mais qu'elle s'infléchit ensuite de plus en plus vers l'axe des abscisses, ou, en d'autres termes, que la production du sucre est d'abord

à peu près proportionnelle à la diastase, mais que plus tard elle croît beaucoup moins rapidement que celle-ci.

2me série d'expériences.

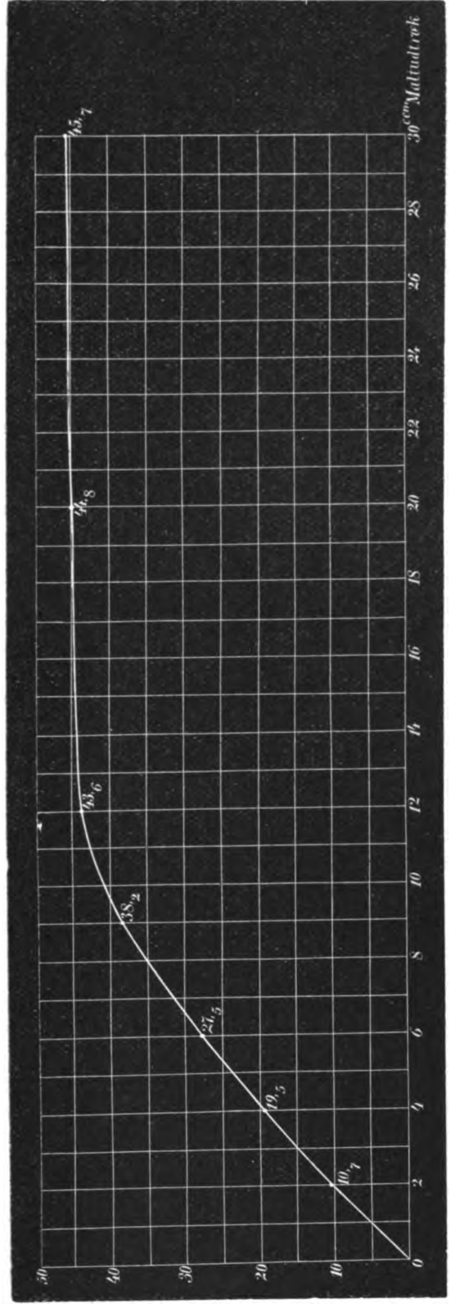
Dans cette série la courbe a une bien plus grande étendue, comme les expériences ont été faites avec des volumes d'extrait de malt variant de 2 à 30 cent. cub. par 10 gr. d'amidon. En y jetant un coup d'œil, on voit aussi qu'elle est déterminée dans toutes ses parties essentielles. Elle montre, comme la précédente, que la production du sucre est au commencement proportionnelle au volume de l'extrait de malt. Lorsque le pouvoir réducteur croît au delà de 30 env. (45 % de maltose env.), on remarque que la production du sucre augmente toujours dans une plus faible proportion, et lorsqu'il atteint 44 (66 % de maltose env.), elle s'arrête presque complètement; une augmentation de l'extrait de malt de 12 à 30 c. c. a seulement fait augmenter la réduction de 43,6 à 45,7 (de 66 % de maltose à 69 % env.).

Un des motifs qui m'ont engagé à m'occuper de ces questions, c'est que je désirais trouver un moyen de déterminer relativement la diastase, ou, pour parler plus justement, le pouvoir fermentatif dans les différentes espèces de malt, pendant les différentes phases de la germination et le traitement ultérieur du malt. Après avoir essayé en vain plusieurs autres procédés, je crois avoir trouvé maintenant une méthode satisfaisante en me basant sur les expériences mentionnées plus haut. J'y reviendrai plus loin avec détail et exposerai les résultats qu'elle m'a donnés, bien qu'ils ne soient pas aussi nombreux ni aussi complets que je l'eusse désiré. La méthode, à proprement parler, ne consiste qu'en un emploi de la courbe précédente, et notamment de sa première partie, où la réduction est moindre que 25—30. Cette partie est presque une ligne droite; 2 c. c. d'extrait de malt ont produit un pouvoir réducteur de 10,7, 4 c. c. ont donné 19,5, soit à peu près le double. On peut donc dire avec une grande approximation que le rapport entre la teneur en diastase (pouvoir fermentatif) de deux dissolutions d'extrait de malt peut être exprimé par le pouvoir réducteur qu'elles produisent, lorsqu'elles agissent toutes les deux sur un même poids d'amidon à la même température et pendant le même temps, le pouvoir réducteur ne dépassant pas 25—30 (Loi de la proportionnalité).

Cette loi simple est d'une grande importance dans les recherches sur la diastase, comme elle constitue la base de toute mesure du pouvoir fermentatif. Mais il est absolument nécessaire, en faisant des expériences comparatives, de s'en tenir à des réductions peu élevées. Si l'on admettait, par exemple, que les quantités de diastase contenues dans 2 dissolutions donnant des pouvoirs réducteurs de 38 et 45 sont entre elles comme 38 : 45 = 100 : 118, on commettrait une grave erreur. La courbe p. 119 nous montre en effet que 9 c. c. d'extrait de malt produisent une réduction de 38, tandis qu'il en faut 21 c. c. env. pour une réduction de 45. Le véritable

rapport entre les pouvoirs fermentatifs des deux dissolutions serait donc 9 : 21 = 100 : 233 au lieu de 100 : 118. Mais comme on obtient aussi une réduction de 45 env. en prenant 18,22 ou 24 c. c. d'extrait de malt, on ne pourra de la production du sucre conclure rien de certain quant à la quantité de diastase, lorsque cette production est aussi avancée que dans cet exemple. Par contre, si l'on a affaire à deux extraits de malt dont l'un donne la réduction 10,7 et l'autre, la réduction 19,5, on pourra dire que les quantités de diastase de ces deux extraits sont entre elles comme 10,7 : 19,5 = 100 : 182. Au lieu d'employer le rapport entre les ordonnées 10,7 et 19,5, il est cependant plus correct de prendre celui entre les abscisses correspondantes 2 et 4 de la courbe ci-contre. Le véritable rapport entre les quantités de diastase des deux extraits de viendra alors 2 : 4 = 100 : 200 (au lieu de 100 : 182).

On voit par là que tant que la loi de la proportionnalité et les limites en deçà desquelles elle est applicable n'étaient pas exactement connues, il ne pouvait être question de mesurer le pouvoir fermentatif d'un extrait de malt.



Action de quantités variables d'extrait de malt sur 10 grm. d'amidon pendant 10 minutes à 55°.

La courbe p. 119 montre qu'en faisant agir une forte quantité d'extrait de malt sur de l'empois à 55° env., on obtient un pouvoir réducteur de 45 ou 68 % env. de maltose, proportion qui ne dépend pas sensiblement de la quantité d'extrait employée. Ce nombre s'accorde très bien avec celui que donne l'équation (1) de O'Sullivan (67,8 %), et confirme ainsi l'exactitude de cette équation. Toutefois la réduction ci-dessus n'est qu'une moyenne; en réalité elle ne cesse de croître, bien que lentement, avec l'extrait de malt, et, en examinant la courbe, il me semble en somme un peu invraisemblable que nous dussions avoir affaire ici à un dédoublement aussi simple; cela devient encore moins vraisemblable si l'on considère la réaction par l'iode. Nous ferons à ce sujet les remarques suivantes.

Après m'être assuré que l'erreur qui peut résulter d'une action tardive de la diastase en delà des limites de temps fixées pour la durée de l'expérience, est beaucoup plus grande lorsque le liquide est rapidement refroidi que lorsqu'on le fait bouillir, comme il a été dit plus haut, je me suis décidé pour cette dernière méthode. M. O'Sullivan a employé le refroidissement pour constater que le liquide, lorsqu'il n'avait pas été porté à l'ébullition et qu'il était filtré avec soin, ne donnait aucune réaction avec l'iode dès que le sucre s'était produit dans la proportion indiquée par ses trois équations. Par contre, si l'on faisait bouillir le liquide pendant qu'il contenait encore le petit reste d'amidon qui reste toujours indissous, il était, après la filtration, coloré en bleu ou en brun par l'iode. Comme cette réaction ne servait pas ici à juger des progrès de la transformation de l'amidon, peu importait que le liquide acquît ou non par l'ébullition la propriété de se colorer avec l'iode. Je ne puis cependant m'empêcher de faire remarquer que la réaction que le liquide donne avec l'iode presque jusqu'au moment où l'on atteint la réduction maximum (44), ne peut guère être attribuée à l'influence de l'ébullition, mais que la dissolution renferme certainement jusqu'à cette limite de 44 des dextrines qui sont colorées par l'iode. Lorsque $R = 15$, le liquide, après avoir bouilli et s'être refroidi, devient parfaitement clair par la filtration et donne avec l'iode une coloration bleue. Si maintenant on ajoute à cette dissolution filtrée le même volume d'extrait de malt qu'auparavant, et laisse digérer le mélange à la même température et pendant le même temps, le pouvoir réducteur croîtra jusqu'à près de 30. L'ébullition ne saurait ici faire dissoudre des substances se colorant avec l'iode, puisque le liquide était complètement clair; cependant il n'en est pas moins encore coloré en brun par ce réactif. En supposant que la coloration bleue observée dans le cas précédent provînt seulement des traces d'amidon dissoutes par l'ébullition, elle aurait dû disparaître après le second traitement par la diastase. En résumé, j'ai trouvé qu'à un certain pouvoir réducteur correspondait toujours une certaine réaction avec l'iode, que la coloration, bleue ou violette avec des réductions au-dessous de 20, devenait rouge-brun et brune avec des réductions entre 20 et 30, passait ensuite par plusieurs nuances jaunes et d'un brun jaunâtre et, lorsque la réduction avait atteint son maximum 44, se réduisait, sauf une légère augmentation, à celle qui est propre à la dissolution d'iode. Cela

s'accorde bien avec la première assertion de M. Musculus, que l'affaiblissement de la réaction de l'iode est une mesure des progrès de la production du sucre, et que celle-ci peut être considérée comme terminée lorsque l'iode ne donne plus de coloration, de même que la connexion existant entre la quantité de sucre produite et la teinte donnée par l'iode est conforme à la théorie exposée par MM. Musculus et Gruber, d'après laquelle il se produirait une série de dédoublements qui donnent naissance à des dextrines d'un poids moléculaire toujours moindre, les dextrines „hautes“, les „basses“ se transformant en dextrines hautes et en maltose.

II.

Influence de la température sur la production du sucre.

On sait par les recherches de MM. Schwarzer et O'Sullivan quelle grande influence la température à laquelle le sucre se produit exerce sur cette production. Ces savants ont en outre constaté qu'un extrait de malt, après avoir une fois été chauffé à une certaine température, ne peut produire une quantité de sucre plus grande que celle qui correspond à cette température, même si on le fait agir sur l'amidon à une température plus basse. Les expériences suivantes montrent également que si l'on chauffe de l'extrait de malt au delà d'une certaine limite, il en résulte un affaiblissement de son pouvoir fermentatif, affaiblissement qui toutefois ne dépend pas seulement de la température à laquelle il a été porté. mais aussi du temps pendant lequel il y est resté exposé, de sorte, par exemple, qu'une longue exposition à 66° peut, à cet égard, avoir le même effet qu'une plus courte à 70°.

Pour chacune des 6 expériences mentionnées dans le tableau ci-après, j'ai employé 10 gr. d'amidon et 8 c. c. d'extrait de malt. La production du sucre a duré 15 minutes à 55°. L'extrait de malt a été chauffé à l'avance

dans l'expérience	No.	1 à 73°	pendant	6	minutes,	R = 11,6
—	-	2 à 73°	—	15	—	R = 8,9
—	-	3 à 65°	—	6	—	R = 24,9
—	-	4 à 65°	—	18	—	R = 15,2
—	-	5 à 55°	—	5	—	R = 42,0
—	-	6 à 55°	—	15	—	R = 42,0.

La diastase s'affaiblit donc de plus en plus à des températures supérieures à 63°(?), tandis qu'à des températures inférieures elle semble ne rien perdre de son pouvoir fermentatif, que la durée de leur action soit courte ou longue. C'est pourquoi, si l'on voulait établir une comparaison réelle entre les pouvoirs fermentatifs au-dessus et au-dessous de 63°, la meilleure marche à suivre, d'après le résultat de ces expériences, serait de ne jamais chauffer à l'avance l'extrait de malt, mais de noter la température qui s'est produite lorsque l'empois s'y est dissous après une rapide agitation, et de la maintenir jusqu'à la fin de l'expérience.

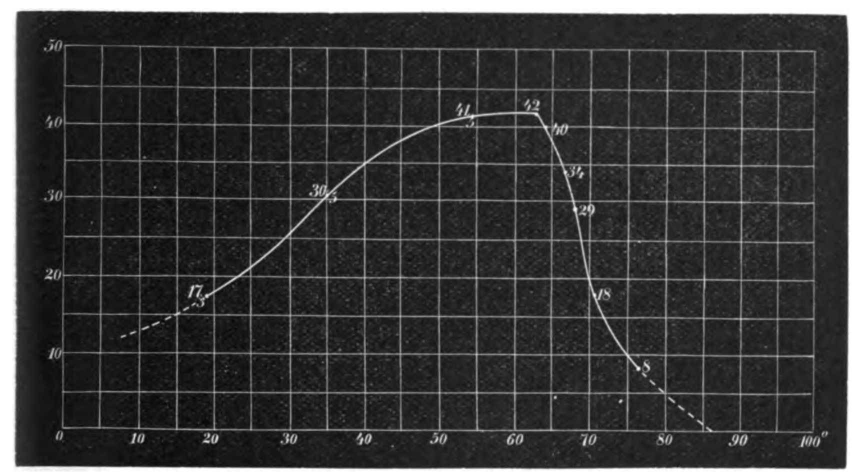
Lorsque, l'expérience une fois terminée, on chauffe le liquide à 90° pour détruire le pouvoir fermentatif, il est clair que la diastase a l'occasion d'agir un peu à toutes les températures comprises entre celle où l'on a opéré et celle où son action s'éteint (un peu au dessus de 80°). Voulait-on, par exemple, déterminer cette action à 40°, il fallait $1^1/_2$ minute pour porter le liquide de 40° à 80°, de sorte que la diastase pouvait agir pendant quelques instants à 50°, 60°, etc. La petite erreur qui en résulte est évidemment d'autant plus grande qu'on opère à une température plus basse, tandis qu'aux températures voisines de la limite d'activité de la diastase, elle devient insignifiante. Comme il a été dit plus haut, cette erreur augmente beaucoup lorsqu'on essaie d'arrêter l'expérience par un refroidissement rapide, même en employant un mélange de glace et de sel marin. Ce procéde est donc à rejeter; mais on peut diminuer notablement l'erreur en question en prolongeant la durée de la digestion avec l'amidon, la diastase s'épuisant alors, pour ainsi dire, à la température de l'expérience, de sorte qu'elle ne peut plus exercer d'action aux températures par lesquelles elle passe ensuite. Aussi, au lieu de 10 minutes qu'a duré la production du sucre dans les séries précédentes, ai-je, dans ces expériences sur l'influence de la température, laissé la digestion avec l'amidon se poursuivre pendant 15 minutes.

Dans toutes les expériences j'ai employé 8 c. c. d'extrait de malt, quantité qui, seulement à la température la plus favorable, pouvait porter la réduction à son maximum. Qu'il ne faille jamais en employer davantage, cela va de soi, puisque autrement on ne serait pas en état de trouver la température optimum, une quantité plus grande d'extrait de malt pouvant aussi, à d'autres températures, donner la réduction maximum. Dans chaque expérience, on a, comme dans les précédentes, opéré sur 200 c. c. env. d'empois provenant de 10 gr. d'amidon. Les facteurs 1, 3 et 4 (voir p. 112) ont ainsi été maintenus constants, et, en faisant varier 2 on a éliminé l'influence de la température sur la production du sucre.

De même que dans le cas précédent, les résultats de ces expériences ont été représentés par une courbe, qui a également pour ordonnées les pouvoirs réducteurs mais pour abscisses les températures. On voit par cette courbe que l'action du ferment, déjà bien marquée à la température ordinaire, croît rapidement avec celle-ci jusqu'à 50°. A 54°, elle est encore un peu plus forte qu'à 50°, mais entre 54 et 63° elle reste presque stationnaire, comme le montre le faible mouvement ascendant de la courbe jusqu'à cette limite. Elle a alors atteint son maximum, car après que la température a dépassé 63°, elle décroît avec une très grande rapidité. De 42 à 63°, la réduction descend ainsi déjà à 40 à 64°, à 34 66°,5, à 18 à 70°, etc. La plus haute température à laquelle on ait opéré est celle de 78°, correspondant à une réduction de 7. On s'est donc contenté de ponctuer la portion suivante de la courbe, qui semble devoir se terminer à 85° environ.

Tandis qu'on savait déjà que l'action de la diastase va rapidement en décroissant au-dessus de 63°, on ne trouve aucune indication précise relativement à la température qui, au-dessous de ce point,

doit être considérée comme la plus favorable: qu'il y ait une différence à cet égard, c'est cependant bien connu. La courbe ci-dessous répond à cette question en nous montrant le fait très remarquable que la température optimum correspond précisément à la limite de 63°; cependant on peut bien regarder comme optimum l'intervalle compris entre 54 et 63°. Par contre, à 6—7° au-dessus de 63°, la décroissance est déjà de moitié. D'après M. O'Sullivan, l'extrait de malt, de 64—68° à 70°, produirait la même quantité de sucre correspondant à R = 22, et se comporterait de la même manière aux températures supérieures à 70°, pour lesquelles on aurait R = 11. Mes expériences semblent être en contradiction manifeste avec cette manière de voir. L'action de la diastase décroît très rapidement au-dessus de 63°, mais en suivant une marche uniforme; sans aucun saut, et les



Action de 8 cent. cub. d'extrait de malt sur 10 gr. d'amidon pendant 15 minutes à une température variable.

quantités de sucre produites à 64 et 68° diffèrent autant entre elles que celles à 68 et 72°.

Lorsque la température descend au-dessous de 50°, la diastase, avons-nous dit, perd beaucoup de son activité. Comme la courbe, dans cette partie, n'est pas aussi caractéristique qu'au delà de 63°, il n'a pas été nécessaire d'en déterminer autant de points. A la température de 18°,5 (température ordinaire d'un appartement), la plus basse à laquelle on ait opéré, il y avait encore une réduction de $17^{1}/_{2}$; je dois cependant de nouveau faire observer que l'action tardive qui se manifeste pendant l'ébullition peut entraîner une erreur sensible, lorsque les expériences se font à d'aussi basses températures. Cette portion de la courbe est peut-être aussi un peu trop haute.

Il semble que la transformation de l'amidon au-dessus et au-dessous de 63°, outre la différence purement quantitative, en présente encore une autre. On voit par la courbe que la production du sucre pendant 15 minutes est à peu près la même à 20° et à 70°, et on

pourrait être tenté d'en conclure que l'action de la diastase sur l'empois est également la même à ces deux températures. Mais en établissant des expériences à 20° et à 70°, la différence d'action deviendra bien manifeste; à 20°, la dissolution marche lentement, le liquide reste longtemps épais et grumeleux, et à l'expiration des 15 minutes il est encore très trouble. A 70°, au contraire, la dissolution se fait pour ainsi dire immédiatement et le liquide devient vite presque complètement clair; même aux températures encore plus élevées de 75 et de 80°, qui sont si peu favorables à la production du sucre, la dissolution se fait encore rapidement et le liquide s'éclaircit bien. Nous reviendrons plus loin sur cette question.

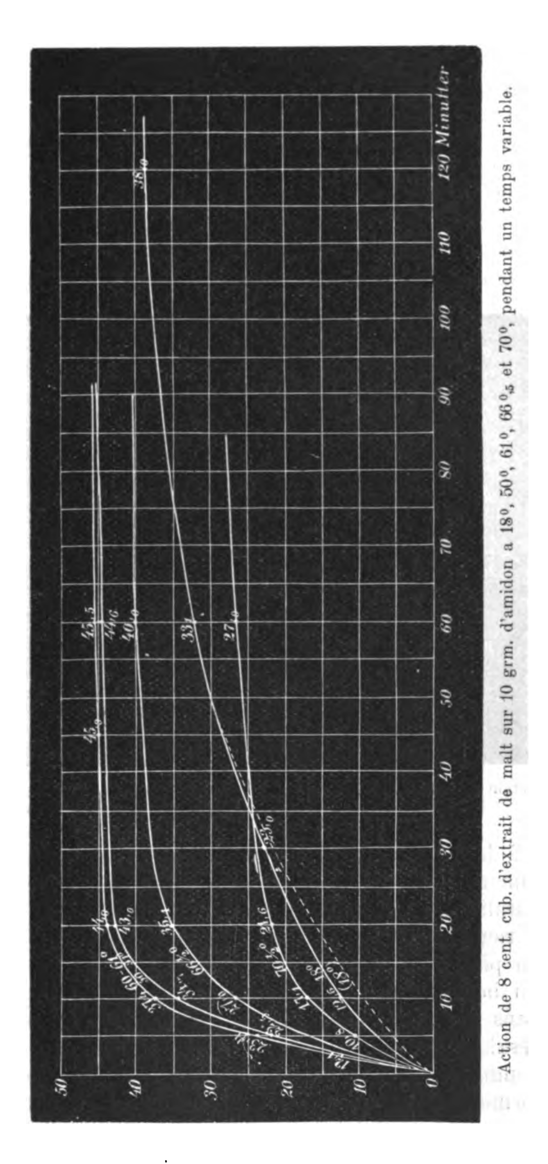
III.

Influence de la durée de la réaction sur la production du sucre.

En faisant agir le même volume d'extrait de malt sur le même poids d'amidon à la même température, mais pendant des temps inégaux, on déterminera le rapport cherché entre la production du sucre et la durée de la réaction. Dans ces expériences, comme dans les précédentes, j'ai employé chaque fois 10 gr. d'amidon et 8 c. c. d'extrait de malt. Relativement au troisième facteur constant, la température, il était à prévoir que le rapport qui nous occupe serait différent, suivant qu'on opèrerait à telle ou telle température. Il était donc nécessaire d'entreprendre plusieurs séries d'expériences chacune à une température différente, celle-ci étant maintenue constante pour les expériences de chaque série prise isolément. J'en ai fait 5 aux températures de 18°, 50°, 61°, 66°,5 et 70°,5. Les résultats ont, comme à l'ordinaire, servi à construire des courbes qui ont toujours pour ordonnées les pouvoirs réducteurs, mais pour abscisses les durées de la réaction exprimées en minutes. On a indiqué sur chaque courbe la température correspondante.

On voit tout de suite que les choses se passent un peu différemment, suivant que la réaction a lieu à la température optimum et au-dessus ou à des températures inférieures. Dans le premier cas, la production du sucre arrive très vite à son maximum; mais, comme il était à prévoir d'après ce que nous avons dit plus haut, la limite qu'elle atteint est très différente, selon que la transformation a lieu à 50—61°, 66°,5 ou 70°,5; les courbes correspondant à ces températures sont cependant homogènes, en tant que la majeure partie de la réaction est terminée pour chacune d'elles au bout de 20 minutes env. ou un peu plus; en prolongeant celle-ci davantage, on n'obtient qu'une augmentation lente de sucre surtout aux températures voisines de l'optimum. Il en est tout autrement aux basses températures; nous voyons, par exemple, que la courbe correspondant à 18° s'élève d'une manière uniforme pendant la première heure, et, même après un si long intervalle, une digestion prolongée (2 heures) produit une augmentation très notable de sucre. Une digestion de 10 minutes donne ainsi beaucoup moins de sucre à 18°

qu'à 70°,5; mais dure-t-elle une demi-heure, la production du sucre est la même à ces deux températures, et la prolonge-t-on enfin pendant une heure ou davantage, l'action produite est bien plus grande à 18° qu'à 70°,5. Il semble donc, lorsque la digestion est très longue, qu'à toutes les températures inférieures à 63°, on peut obtenir la même quantité de sucre qu'à cette limite, et que l'action de la diastase est la même à toutes ces températures, en tant que la production du sucre peut à chacune d'elles atteindre les mêmes proportions, la différence ne portant que sur la rapidité plus ou moins grande avec laquelle ce résultat est obtenu. Les deux courbes supérieures, sur la figure, montrent que, relativement à la rapidité avec laquelle commence la transformation, il importe peu également qu'on opère à 50° ou à 61°. Toutefois, en ce qui concerne la série d'expériences faite à 18°, je ferai observer que l'erreur mentionnée plus haut, qui résulte de l'action de la diastase pendant le chauffage du mélange, prend naturellement une grande importance dans la détermination de cette courbe, surtout de ses premiers points. On voit aussi que la première partie en est moins régulière et porte pour ainsi dire l'empreinte de l'erreur dont il s'agit. Comme celle-ci est cause qu'on trouve une quantité de sucre trop forte, les points de cette partie de

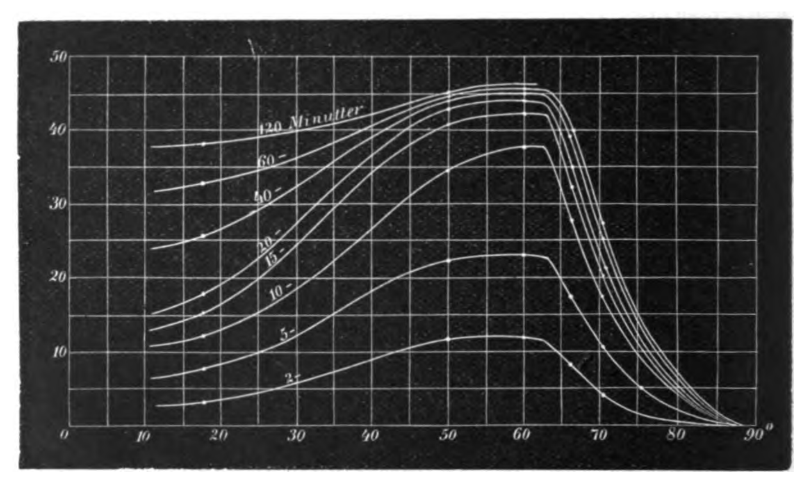


Action de 8 cent. cub. d'extrait de malt sur 10 grm. d'amidon a 18°, 50°, 61°, 66°,5 et 70°, pendant un temps variable.

la courbe doivent être situés trop haut, et la courbe ponctuée tracée au-dessous répondra peut-être aussi plus exactement à la réaction qui a lieu en réalité à la température de 18°.

Après avoir construit, pour diverses températures, un certain nombre de courbes avec le temps comme variable, on peut s'en servir pour construire des courbes correspondant à divers espaces de temps, en prenant la température pour variable. On trouvera ces courbes ci-dessous; de même que celles de la p. 123, elles ont pour ordonnées les pouvoirs réducteurs et pour abscisses les températures. Le temps varie d'une courbe à l'autre mais est constant pour chacune d'elles, et sur chaque courbe est indiqué en minutes le temps auquel elle correspond.

Relativement à la partie au-dessous de 63°, qui pour le temps 0 se confond avec l'axe des abscisses, on voit que pour une très longue digestion, elle tend de nouveau à devenir parallèle à cet axe

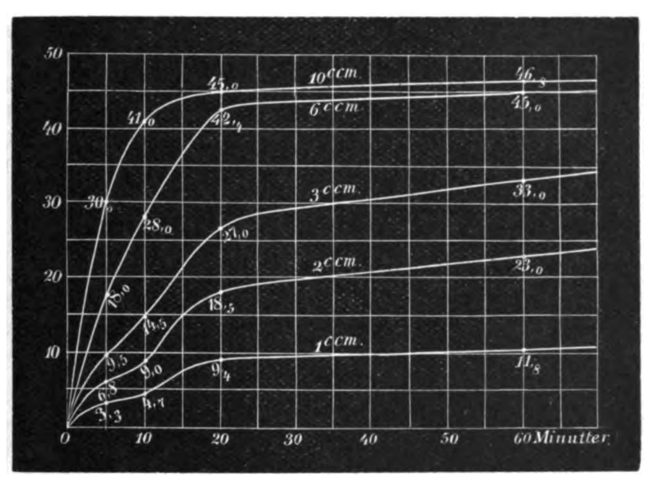


Action de 8 cent. cub. d'extrait de malt sur 10 grm. d'amidon pendant 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60 et 120 minutes à une température variable.

(cf. la courbe pour 120 minutes). Les courbes qui correspondent à une digestion de 15—20 minutes s'élèvent le plus rapidement et sont parallèles. Quant à la partie de la courbe au-dessus de 63°, il n'y a rien de particulier à remarquer; elle se redresse seulement de plus en plus à mesure que le temps croît. Ce groupe de courbes offre un bon exemple des grands avantages de la représentation graphique dans des recherches de ce genre. Si l'on se contente d'inscrire les résultats en chiffres ou, ce qui revient au même, si on les établit comme des points isolés dans un système de coordonnées, les analyses formeront en apparence un chaos où il sera très difficile de se retrouver, tandis qu'en reliant par des courbes les points qui se correspondent, on remarquera tout de suite la connexion simple qui existe en réalité entre les différents résultats.

Comme il a été dit plus haut, on a, dans toutes les expériences qui précèdent, employé chaque fois 8 cent. cub. d'extrait de malt.

Dans l'impossibilité de les faire toutes avec le même extrait, je me suis servi de deux extraits différents, mais qui ont été préparés avec le même malt absolument de la même manière, et qui, dans leur action sur l'empois d'amidon, se sont également montrés si identiques, qu'on peut dire sans erreur sensible que la quantité de ferment employée a été la même dans toutes lés expériences. Mais il m'a semblé qu'il y aurait aussi de l'intérêt à rechercher comment les choses se passent en employant des quantités différentes de diastase, notamment pour voir si de petites portions de ce ferment exercent toute leur action dans le même temps que des portions plus grandes. Il était suffisant de faire ces expériences à une température unique, et j'ai naturellement choisi la température optimum. Dans les séries suivantes, où la durée de la réaction est la grandeur variable, le sucre s'est toujours produit à la même température, à savoir à 56°. Le volume d'extrait de malt employé est également constant pour les



Action de 1, 2, 3, 6 et 10 cent. cub. d'extrait de malt sur 10 gr. d'amidon à 56° pendant un temps variable.

expériences de chaque série, mais variable dans les différentes séries. Comme à l'ordinaire, les résultats ont été représentés graphiquement par des courbes, qui ont pour ordonnées les pouvoirs réducteurs et pour abscisses les temps (en minutes), et on a indiqué pour chaque courbe le volume d'extrait de malt correspondant. Les courbes ci-dessus représentent l'action de 1, 2, 3, 6 et 10 cent. cub. d'extrait de malt sur 10 gr. d'amidon pendant des temps qui varient de 5 à 60 minutes.

On voit par l'inspection de ces courbes que l'action de ces différentes quantités d'extrait de malt, de même que nous l'avons constaté pour 8 c. c., est terminée au bout de 20 minutes ou à peu près, et que de 20 à 60 minutes, le temps le plus long pendant lequel on ait opéré, le poids du sucre augmente bien constamment mais avec une très grande lenteur. Cependant il va sans dire que c'est seule-

ment avec de petites quantités de diastase, trop faibles pour porter la réduction aux environs de **44**, que la production rapide du sucre peut se poursuivre pendant 20 minutes. Si l'on emploie un volume plus grand d'extrait de malt, cette réduction sera atteinte en moins de 20 minutes, après quoi le sucre ne se produira que lentement. Nous voyons aussi que la courbe qui représente l'action de 10 c. c. d'extrait de malt a déjà atteint **44** après 15 minutes env., et que dès lors cette action est faible. Parmi les volumes d'extrait de malt qui ont servi aux expériences, celui de 6 c. c. a juste suffi pour produire une réduction voisine de **44**, et nous constatons également ici une énergique production de sucre pendant 20 minutes env. Avec 10 c. c. d'extrait de malt, la diastase doit donc être considérée comme étant en excès; cet excès ne peut pas donner lieu à une grande augmentation de sucre, mais son action se manifeste dans la marche plus rapide de la réaction, qui arrive à sa fin au bout de 15 minutes environ. Par conséquent, c'est pendant les 20 premières minutes tout au plus qu'on observe une rapide production de sucre, qui suit une progression presque uniforme lorsqu'on opère avec d'assez grandes quantités d'extrait de malt, de sorte qu'elle est, du moins approximativement, proportionnelle au temps. Avec de petites quantités d'extrait de malt, cette portion de la courbe présente une singulière irrégularité, à savoir un minimum partiel dans le voisinage de l'abscisse 10, lequel est d'autant plus marqué qu'on a employé moins d'extrait.

Nous avons maintenant étudié l'influence que la quantité du ferment, la température à laquelle il agit et la durée de la réaction exercent sur la production du sucre, et déterminé cette influence en faisant varier l'un de ces trois facteurs, les deux autres restant constants. Le quatrième facteur à considérer est la concentration de la dissolution où agit la diastase, concentration qui a été maintenue constante dans toutes les séries d'expériences qui précèdent, puisqu'on a toujours opéré sur 10 gr. d'amidon et que le volume de l'empois correspondant ne s'est jamais beaucoup écarté de 200 cent. cub. Il nous reste donc à rechercher quelle influence une concentration différente de l'empois peut avoir sur la quantité de sucre produite par la même quantité de diastase, agissant à la même température et pendant le même temps. Mais comme ces expériences ont été exécutées par une méthode qui s'écarte un peu des précédentes, elles feront l'objet d'un chapitre à part (p. 142).

Mesure du pouvoir fermentatif.

Le principe qui sert de base à la détermination relative de la diastase a déjà été développé plus haut. C'est en faisant agir ce ferment de manière à n'opérer qu'une transformation imcomplète de l'empois ($R < 25-30$) et en dosant le sucre ainsi produit, qu'on peut déduire des conclusions relativement à la richesse de la dissolution en diastase. Il n'est pas besoin d'ajouter qu'on n'obtient par là que le rapport entre les pouvoirs fermentatifs des dissolutions qui sont soumises à cet examen et non leur contenu réel en diastase, comme le rapport entre la teneur en ferment et le poids du sucre produit est inconnu.

Nous avons déjà donné, p. 119, un exemple d'une pareille comparaison entre la richesse en diastase de deux dissolutions, et on peut opérer de la même manière dans toutes les recherches de ce genre. Mais ce procédé est sous plusieurs rapports incommode; cela prend beaucoup de temps de préparer chaque fois de l'empois et d'attendre qu'il soit suffisamment refroidi, de même qu'il n'est pas facile d'amener cette masse peu fluide à une température uniforme. On remédie à ces inconvénients en faisant dissoudre à la fois une grande quantité d'empois au moyen d'une portion relativement petite d'extrait de malt, ce qui donne un liquide coulant avec facilité et qui ne renferme qu'une petite proportion de sucre. Il reste alors à le faire bouillir, à l'étendre d'eau après refroidissement jusqu'à une concentration de 3—4 %, et enfin à déterminer exactement sa teneur en sucre. C'est ce liquide que nous avons employé au lieu d'empois dans les expériences qui suivent. On en mesure chaque fois 200 c. c., par exemple, le porte rapidement à 60° en plongeant, pendant quelques instants, l'éprouvette dans de l'eau bouillante, transporte ensuite celle-ci dans le bain-marie (Fig. 1) également chauffé à 60°, et y provoque par une addition d'extrait de malt une nouvelle production de sucre, qu'on arrête au bout de 20 minutes par l'ébullition. On peut alors déduire l'action de l'extrait de malt de la quantité de sucre que le liquide renferme après l'expérience diminuée de celle qui s'y trouvait avant, ou, en d'autres termes, de l'accroissement du sucre.

Il semble hors de doute que les principes que nous avons exposés pour la mesure de l'action de la diastase, doivent pouvoir s'appliquer sans changement à la méthode ainsi modifiée, et c'est ce qui sera encore plus amplement confirmé dans les pages suivantes par plusieurs séries d'expériences. Nous aurons seulement, dans la courbe p. 119, à transporter les axes des coordonnées parallèlement à eux-mêmes de manière que l'origine vienne coïncider avec un autre point de la courbe, par exemple avec le point 10.

Dans toutes les expériences qui suivent la production du sucre a eu lieu à 57—59° et a duré 20 minutes. On a vu dans le paragraphe qui traite de l'influence de la température sur la production du sucre, que l'action de la diastase est environ la même de 55 à 63°. Par conséquent, en opérant à 57—59°, on

peut dire sans erreur sensible que la diastase a agi à son optimum, et cette température a en outre le grand avantage qu'il n'est pas nécessaire de la maintenir si rigoureusement constante, puisqu'un écart de quelques degrés en plus ou en moins n'a aucune importance. Il n'est pas prudent d'opérer à une température très voisine de 63°, comme un petit écart accidentel au-delà de cette limite a pour conséquence une très forte diminution dans la production du sucre. La durée de la réaction a été limitée à 20 minutes selon les indications des courbes p. 127, qui montrent que l'action de différentes quantités d'extrait de malt peut être considérée comme terminée au bout de ce temps. Une digestion plus longue serait donc superflue, et une plus courte aurait pour effet qu'une petite erreur dans le temps exercerait une influence sensible sur le résultat.

Dans ce chapitre, l'action du ferment est toujours exprimée en fonction de la totalité du sucre (glucose) produit par le volume d'extrait de malt employé. Le pouvoir réducteur n'a en général pas été calculé, mais on a eu soin qu'il ne dépassât jamais 25—30 (limite de la loi de proportionnalité). En effet le rapport entre les accroissements du sucre répond aussi bien et même plus exactement que celui des pouvoirs réducteurs aux quantités de diastase, car le pouvoir réducteur augmente un peu plus lentement que l'accroissement du sucre, d'où il suit que la courbe qui représente cet accroissement s'infléchit moins vers l'axe des abscisses, et se rapproche plus de la ligne droite que la courbe p. 119.

Dans les premières séries d'expériences qui suivent, on a opéré chaque fois avec 200 c. c., volume qui a ensuite été porté à $^1/_4$ de litre par analogie avec les expériences de la première partie. Plus tard, je n'ai pris que 100 c. c., que j'ai portés à 130 (au lieu de 125, pour pouvoir rincer suffisamment l'éprouvette). Lorsque l'action du ferment est exprimée par le poids total du sucre, cette différence ne nuit pas à la comparaison des analyses. Exemple: dans une expérience où 0,5 c. c. d'extrait de malt ont agi sur 200 c. c. de la liqueur d'essai, on a trouvé, après avoir porté ce volume à $^1/_4$ de litre, 0,400 % de sucre, correspondant à un poids total de 1,00 gr.; les 200 c. c. de la liqueur d'essai renfermant en tout 0,64 gr. de sucre, l'accroissement sera donc de 0,36 gr. Dans une autre expérience, le même volume d'extrait de malt, 0,5 c. c., n'a agi que sur 100 c. c. de la liqueur d'essai; après avoir étendu d'eau jusqu'à 130 c. c., on a trouvé 0,523 % de sucre, correspondant à un poids total de 0,68 gr., dont 0,32 gr. proviennent de la liqueur d'essai; l'accroissement de sucre que 0,5 c. c. d'extrait de malt ont produit dans ce cas est donc de 0,36 gr. comme dans la première expérience. Mais cet accord aurait facilement passé inaperçu, si l'on avait seulement indiqué les teneurs en centièmes 0,40 et 0,52.

Relativement à la préparation de la liqueur d'essai, il y a cependant encore quelque chose à observer. On peut en effet procéder de deux manières: ou dissoudre l'empois avec aussi peu d'extrait de malt que possible, en faisant agir ce dernier à la température optimum, ou employer une plus grande quantité d'extrait de malt, mais en ayant soin d'opérer à une température voisine de la limite d'ac-

tivité de la diastase, pour empêcher que la production du sucre ne dépasse une certaine limite. La première de ces méthodes, dans laquelle on a affaire à une dissolution qui ne renferme que des substances dérivées de l'amidon, m'a paru être indiquée tout d'abord, et elle a aussi été essayée en premier lieu.

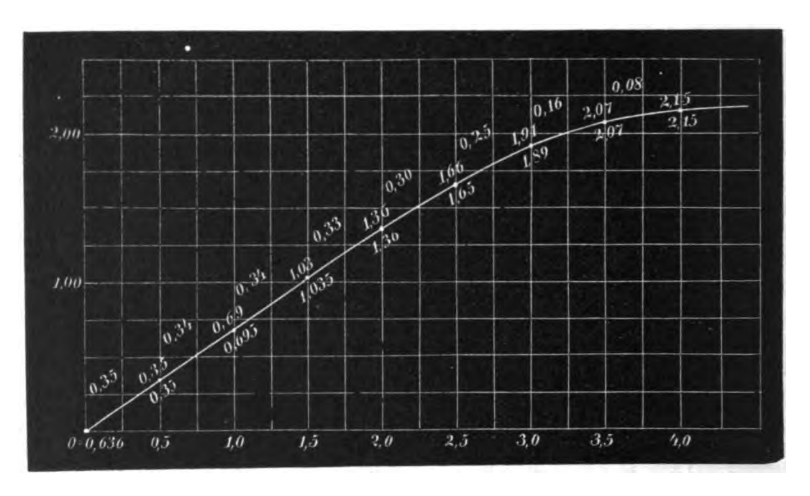
250 gr. d'amidon ont été transformés en empois et traités à 55° env. par 25 c. c. d'extrait de malt de force ordinaire (1 : 4), quantité qui a suffi pour les dissoudre en quelques minutes. Après une digestion de 20 minutes, le liquide a été porté à l'ébullition, puis refroidi et étendu d'eau jusqu'à 5 litres. La quantité de matière sèche était alors de 4,10 %, dont 0,03 % provenant de l'extrait de malt et 4,07 % de l'amidon, et celle du sucre, de 0,443 %, dont 0,430 % appartenant à l'amidon, ce qui donnait pour le pouvoir réducteur $\frac{43}{4,07} = 10,6$. La dissolution, d'abord bien claire, se recouvrait d'une pellicule pendant le refroidissement, et une fois refroidie, ressemblait tout à fait à du lait. La matière en suspension. examinée au microscope, se composait de grains ronds extrêmement petits, bien plus petits encore que les disques d'amylodextrine décrits par M. W. Nägeli. (Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe, p. 15), et parmi lesquels se trouvaient quelques corps irréguliers filiformes. La dissolution était bien encore fluide, mais après avoir été abandonnée quelque temps à elle-même, elle s'épaississait de plus en plus, et la production du sucre devenait alors un peu irrégulière, de sorte que cette méthode devait être considérée comme peu pratique.

On obtient de meilleurs résultats par la seconde méthode, en opérant avec une quantité plus grande d'extrait de malt, mais à une haute température. 250 gr. d'amidon ont été transformés en empois dans une casserole, et celle-ci a été mise dans un bain-marie contenant de l'eau bouillante de manière à élever à 80° la température de l'empois, qu'on a ensuite traité par 200 c. c. d'extrait de malt (8 fois plus que dans le cas précédent) chauffé au préalable à 60—65°. La dissolution s'est faite rapidement et, après avoir maintenu le liquide à 78—80° pendant 20 minutes, on l'a porté à l'ébullition. Ce dernier, d'abord presque complètement clair, devient bien un peu trouble en se refroidissant; mais ce défaut disparaît complètement, quoique avec quelque peine, par la filtration, tandis que le liquide laiteux de l'expérience précédente ne se laissait pas du tout filtrer. Le liquide clair a alors été étendu d'eau dans des proportions telles qu'il avait une concentration de 3,30 % dont 3,16 % dus à l'amidon, et renfermait 0,318 % de sucre, dont 0,265 % provenant de l'amidon [1]). Le pouvoir

[1]) Après avoir été étendu d'eau de 200 à 250 c. c., il en contiendra donc 2,65 %; la concentration était ainsi moindre que dans les expériences de la première partie, où elle s'élevait à 3,30 % environ dans les dissolutions diluées jusqu'à 1/4 de litre. Mais cela est sans influence sur les résultats, comme on le verra dans le chapitre „Influence de la concentration, etc.“ (p. 142).

réducteur n'est donc ici que de $\frac{26,5}{3,16} = 8,4$. Pour la dissolution précédente, faite à 55°, nous avons trouvé R = 10,6; la production du sucre y a donc été plus grande que dans la dernière liqueur préparée à 78—80°, bien que celle-ci fût presque claire, qu'elle eût conservé longtemps sa limpidité et que la dissolution parût par conséquent devoir être plus complète que dans le premier cas. C'est une nouvelle confirmation du fait relevé p. 123, que les produits de la transformation de l'amidon semblent être un peu différents, suivant que la dissolution a lieu au-dessus ou au-dessous de 63°.

La courbe suivante montre la production du sucre par la diastase dans le liquide précédent (57°, 20 minutes). Les abscisses représentent, comme d'ordinaire, les volumes d'extrait de malt en centimètres cubes, et les ordonnées sont les quantités totales de sucre ainsi pro-



Accroissement du sucre par l'action de quantités variables d'extrait de malt sur 200 cent. cub de la liqueur d'essai.

duites, en grammes. Les points de la courbe qui ont été déterminés expérimentalement sont accompagnés de deux nombres, dont l'un, au-dessous de la courbe, donne en grammes l'accroissement de sucre trouvé par l'analyse, et l'autre, placé au-dessus, indique le poids probable du sucre d'après l'allure de la courbe. Comme on le verra, il n'y a nulle part d'écart sensible entre les deux nombres. Sur la portion de courbe comprise entre deux de ces points, et au-dessus de celle-ci, on trouve un troisième nombre qui indique le mouvement ascendant de cette portion ou l'accroissement du sucre pour chaque demi-centimètre cube d'extrait de malt. Ces accroissements et leurs différences sont exposés dans le tableau ci-après:

	Accrois. du sucre.	Différences.
0,5 cent. cub. d'extrait de malt	0,35 gr.	0,35 gr.
1,0 — —	0,69 -	0,34 -

	Accrois. du sucre.	Différences.
1,5 cent. cub. d'extrait de malt	1,03 gr.	0,34 gr.
2,0 — —	1,36 -	0,33 -
2,5 — —	1,66 -	0,30 -
3,0 — —	1,91 -	0,25 -
3,5 — —	2,07 -	0,16 -
4,0 — —	2,15 -	0,08 -

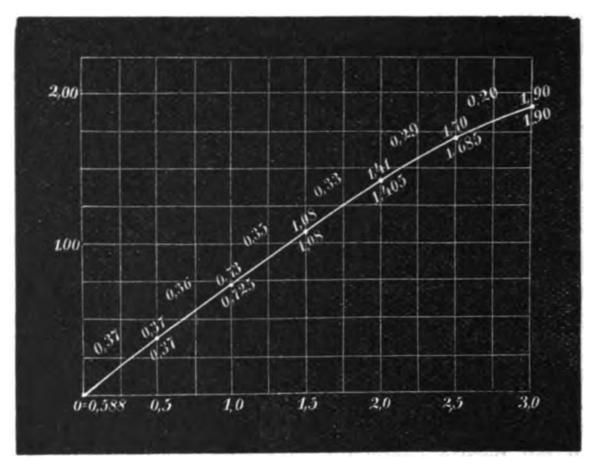
Ces nombres montrent clairement que la loi de la proportionnalité est suivie ici et, par suite, que le liquide se prête à la mesure du pouvoir fermentatif. L'écart commence à être sensible lorsqu'on dépasse 2 cent. cub. d'extrait de malt, quantité qui correspond environ à un pouvoir réducteur R = 28. La limite de la loi a été fixée, p. 118, à R = 25—30.

D'après le pouvoir réducteur trouvé plus haut, la matière sèche contenue dans le liquide se compose de 15 % de maltose et de 85 % de dextrine, tandis que dans l'expérience faite avec 4 c. c. d'extrait de malt, elle renferme 63 % de maltose et 37 % de dextrine. A ces nombres correspondent, suivant O'Sullivan, les pouvoirs rotatoires $(\alpha)_D = 184^0,5$ et $(\alpha)_D = 157^0$; l'observation a donné, toutes corrections faites, $(\alpha)_D = 185^0$ et $(\alpha)_D = 158^0$. Dans le premier cas, le liquide était coloré en bleu foncé par l'iode, et dans le second, en jaune pâle; comme on a trouvé la vraie rotation en prenant, dans les deux cas $(\alpha)_D = 193^0$ pour la dextrine, cela semble confirmer la supposition de M. O'Sullivan, que toutes les substances que nous rapportons au groupe „amidon soluble et dextrines" ont le même pouvoir rotatoire. Je dois cependant ajouter que les dissolutions que j'ai examinées étaient trop faibles, pour que de petites différences dans le pouvoir rotatoire des substances dont il s'agit pussent clairement se manifester.

Comme la filtration de la liqueur d'essai est un travail très difficile et qui fait perdre beaucoup de temps, j'ai cherché si le résultat serait différent en omettant cette opération, et en employant ce liquide avec la teinte opaline qu'il présente après la dissolution, l'ébullition et le refroidissement. Dans ce but, j'en ai préparé une nouvelle portion absolument de la même manière, mais sans le filtrer et en me contentant, après le refroidissement, de le passer par un tamis en gaze pour en séparer les petites parties restées indissoutes. J'en ai ensuite déterminé le volume et la teneur en matière sèche (poids spécifique), afin d'en déduire la quantité d'eau qu'il fallait y ajouter pour l'amener à une concentration de 3,30 %, comme dans le cas précédent. Après avoir ajouté cette eau et bien agité le mélange, le liquide avait un poids spécifique de 1,0275, correspondant à 3,31 % de matière sèche, et renfermait 0,294 % de sucre, dont 0,245 % provenant de l'amidon. La courbe ci-contre montre l'action de l'extrait de malt sur 200 c. c. de cette dissolution; les nombres qui accompagnent la courbe ont la même signification que dans la précédente. Les accroissements du sucre et leurs différences sont:

	Accrois. du sucre.	Différences.
0,5 cent. cub. d'extrait de malt	0,37 gr.	0,37 gr.
1,0 — —	0,73 -	0,36 -
1,5 — —	1,08 -	0,35 -
2,0 — —	1,41 -	0,33 -
2,5 — —	1,70 -	0,29 -
3,0 — —	1,90 -	0,20 -

Comme on le voit, ces résultats s'accordent, sous tous les rapports, avec ceux que donne la courbe précédente. Les accroissements du sucre sont presque complètement proportionnels à la diastase, tant que le poids du sucre ne dépasse pas 1,41 + 0,49 (sucre de la liqueur d'essai, provenant de l'amidon) = 1,90 gr., ce qui correspond à peu près à un pouvoir réducteur de 29. Il n'est donc pas nécessaire de filtrer le liquide.



Accroissement du sucre par l'action de quantités variables d'extrait de malt sur 200 cent. cub de la liqueur d'essai.

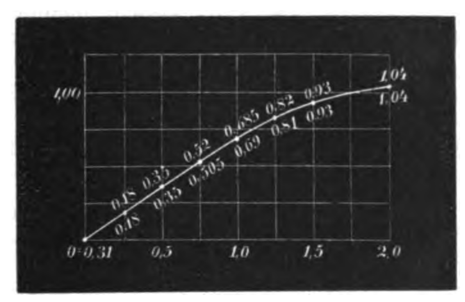
Enfin la courbe p. 135 représente une série d'expériences dans laquelle on a opéré chaque fois avec 100 c. c. de liquide (matière sèche, 3,30 °/o; sucre, 0,31 °/o), qui ont ensuite été portés à 130 c. c. Les accroissements du sucre et leurs différences sont :

	Accrois. du sucre.	Différences.
0,25 cent. cub. d'extrait de malt	0,18 gr.	0,18 gr.
0,50 — —	0,35 -	0,17 -
0,75 — —	0,52 -	0,17 -
1,00 — —	0,685 -	0,165 -
1,25 — —	0,82 -	0,135 -
1,50 — —	0,93 -	0,11 -
2,00 — —	1,04 -	

La courbe présente donc la plus grande conformité aves les deux précédentes. Qu'elle s'écarte plus tôt de la ligne droite, cela provient

naturellement de ce qu'après l'accroissement de 0,685 gr., qui est produit par 1 c. c. d'extrait de malt, nous avons déjà atteint le pouvoir réducteur de 28 ou la limite de la loi de la proportionnalité. En la comparant avec la courbe p. 132, nous voyons aussi que 1 c. c. d'extrait de malt produit dans les deux cas la même quantité de sucre (0,69 gr. et 0,685 gr.), tandis que 2 c. c. en ont donné 1,36 gr. dans 200 c. c., mais seulement 1,04 gr. dans 100 c. c.

Mais une pareille dissolution abandonnée à elle-même à la température ordinaire devient bientôt acide, et, comme nous le verrons plus tard, ne peut alors plus servir. Pour prévenir cette altération, on la conserve dans des flacons bien bouchés qui sont mis dans un baquet rempli de glace, d'où on ne les retire que pour mesurer les portions de liquide dont on a besoin. De cette manière j'ai pu, en hiver, conserver cette dissolution pendant 4 semaines, sans qu'après ce long intervalle elle eût subi la moindre altération, si ce n'est qu'il s'était formé un léger précipité floconneux et que le liquide surnageant paraissait un peu plus clair, circonstances sans importance aucune



Accroissement du sucre par l'action de quantités variables d'extrait de malt sur 200 cent. cub. de la liqueur d'essai.

quant à son emploi pour la mesure du pouvoir fermentatif. Cependant je n'ai pas jugé prudent, pour quelques séries d'expériences que j'ai entreprises dans le courant de l'été, de conserver la dissolution plus de 8 jours.

Nous avons donc maintenant les moyens de comparer la richesse en diastase de différentes dissolutions, et la voie est ainsi ouverte à un grand nombre de recherches intéressantes. Nous pouvons, par exemple, examiner les diverses espèces de malt au point de vue de leur richesse en ferment, question qui peut avoir de l'importance pour l'emploi du malt dans les distilleries. Nous pouvons aussi étudier le développement de la diastase pendant la préparation du malt, et aboutir peut-être par là à des conclusions importantes relativement à la marche qu'elle suit; de même, il y aurait certainement de l'intérêt, au point de vue de la physiologie végétale, à pouvoir suivre pendant la germination le développement de cette remarquable substance. Nous pouvons en outre rechercher l'influence du touraillage sur le pouvoir fermentatif du malt, lequel, comme on sait, lui fait subir une diminution assez notable; à l'aide de la nouvelle méthode, il sera

facile de suivre cette diminution pas à pas pendant le séchage, et de déterminer sous ce rapport l'influence des divers procédés de dessication. Nous pouvons de même rechercher l'influence que la mise en couches du malt, dans diverses circonstances, exerce sur son pouvoir fermentatif, etc.

Mais avant d'appliquer la méthode à la solution de ces divers problèmes pratiques, il y a une question que nous devons d'abord chercher à résoudre. Nous avons vu plus haut comment on peut comparer la quantité de diastase contenue dans différentes dissolutions. Mais nous avons affaire ici à des corps solides, et il faut commencer par déterminer comment on doit procéder à l'extraction de la diastase pour qu'elle passe en entier dans la dissolution. C'est ce que montrent les expériences suivantes.

Pour chaque portion de 25 gr. de malt touraillé finement moulu, on a pris 1000 gr. d'eau distillée, où on l'a fait digérer pendant un temps variable en agitant fréquemment le mélange. Tandis que les extraits précédents étaient préparés avec 1 partie de malt et 4 parties d'eau, on a employé ici 40 parties d'eau pour chaque partie de malt, comme il était à présumer que cette grande quantité d'eau rendrait plus rapide et plus complète l'extraction de la diastase. On a facilement obtenu des extraits clairs en reversant plusieurs fois sur le filtre le liquide qui avait passé tout d'abord, et, après avoir dosé le sucre de chaque extrait en vue de la correction à faire, on en a, suivant la méthode ordinaire, fait agir 15 c. c. sur de l'empois et déterminé ensuite les accroissements du sucre.

	Durée de la digestion.	Accrois. du sucre.
No. 1	1/2 heure	0,863 gr.
- 2	4 heures	1,055 -
- 3	6 —	1,098 -
- 4	12 —	1,105 -

On voit par là qu'une 1/2 heure de digestion n'a pas suffi pour faire dissoudre toute la diastase, mais qu'on peut se contenter de 6 heures, puisque l'extrait ainsi obtenu ne diffère pas sensiblement de celui que donne une digestion de 12 heures.

Dans les recherches sur le malt vert et, en général, sur l'orge dans les différentes phases de sa germination, la matière première exige un traitement un peu plus compliqué, comme le grain tendre et très riche en eau ne se laisse pas moudre. Après avoir écrasé le grain humide, on pèse 25 gr. de la pâte ainsi obtenue, et on la pétrit par petites portions avec de l'eau jusqu'à ce que le tout, à l'exception des balles, forme un mélange homogène, auquel on ajoute ensuite de l'eau jusqu'à 1025 gr. On commet donc ici une petite erreur, puisqu'on ajoute dans tous les cas 1000 gr. d'eau sans avoir égard à la quantité d'eau plus ou moins grande que renfermait le malt. Mais cette erreur est insignifiante; tandis que le poids de l'eau du mélange, avec du malt tourraillé complètement sec, est de 1000 gr., il ne s'élève avec le malt non touraillé le plus humide qu'a 1012 gr. env., ce qui donne seulement une différence de 1 % env.

Au lieu d'opérer de cette manière, on peut étendre le grain humide en couches minces dans un local légèrement chauffé. On arrête alors la germination après un très court intervalle, et, au bout de quelques jours, les grains sont assez secs pour qu'on puisse les moudre fin.

Il va sans dire que chaque détermination du pouvoir fermentatif doit être accompagnée d'un dosage de l'eau contenue dans l'échantillon soumis à l'expérience, afin qu'on puisse réduire les valeurs obtenues pour la diastase à ce qu'elles auraient été si l'on avait opéré aver du malt sec.

En examinant les courbes p. 132 et 134, on voit que 1,5 c. c. d'extrait de malt (ou 15 c. c. d'extrait de 1 partie de malt: 40 parties d'eau) a produit dans les deux cas un accroissement de sucre de 1 gr. env. J'ai donc posé la quantité de diastase contenue dans un malt = 100, lorsque 15 c. c. d'un extrait de ce malt ayant la concentration 1 : 40 produisent un accroissement de sucre de 1 gr. dans 200 c. c. de la liqueur d'essai. Dans les analyses de dissolutions contenant du ferment, il faut chercher à en prendre une quantité telle que l'accroissement de sucre ait à peu près cette valeur. Lorsqu'on examine, par exemple, des échantillons de malt touraillé qui ne diffèrent pas beaucoup entre eux quant à leur action, on doit prendre 15 c. c. d'extrait. Si les accroissements du sucre sont voisins de 1 gr., les quantités de diastase leur seront proportionelles, la courbe pouvant être considérée comme une ligne droite sur de petites étendues. S'ils s'écartent sensiblement de ce poids, et même s'ils dépassent un peu les limites de la loi de la proportionnalité, on pourra cependant, à l'aide des courbes p. 132 et 134, déterminer les quantités de diastase, comme elles seront proportionnelles aux abscisses correspondant aux poids de sucre trouvés. Dans ce cas, néanmoins, il vaut mieux de n'utiliser une pareille expérience que comme un moyen de s'orienter, et de la recommencer en opérant sur un volume d'extrait tel qu'on obtienne un accroissement de sucre de 1 gr. environ. Exemple: 15 c. c. d'extrait de malt vert ont donné un accroissement de sucre de 1,90 gr., correspondant à l'abscisse 3,0 de la courbe p. 134; la quantité de diastase devrait donc être égale à $\frac{8{,}0 \text{ (abscisse de 1,90)}}{1{,}4 \text{ (abscisse de 1,00)}} . 100 = 214$. Mais comme nous sommes ici en dehors de la portion en ligne droite de la courbe, nous recommençons l'expérience avec 7,5 c. c. du même extrait, et trouvons, par exemple, un accroissement de sucre de 1,11 gr., ce qui donne pour la diastase contenue dans l'échantillon $2 . \frac{1{,}11}{1{,}00} . 100 = 222$ (on arrive au même résultat en prenant le rapport entre les abscisses, car $2 . \frac{1{,}55 \text{ (abscisse de 1,11)}}{1{,}4 \text{ (abscisse de 1,00)}} . 10 = 222$). Si l'on n'emploie que 100 c. c. de la liqueur d'essai, il faut seulement prendre assez d'extrait pour produire un accroissement de sucre de 0,5 gr. environ. La quantité de diastase est ici = 100, lorsque 7,5 c. c. d'extrait (1 : 40) donne un accroissement de sucre de 0,5 gr., cet accroissement étant à peu près produit par 7,5 c. c. d'un extrait de malt touraillé ordinaire.

Pouvoir fermentatif de l'orge.

C'est un fait connu que l'orge, même lorsqu'elle n'a pas encore germé, possède déjà un pouvoir fermentatif sensible. Cependant on se le figure certainement bien moins grand qu'il ne l'est en realité. 15 et 22 c. c. d'un extrait d'orge non germée, préparé de la manière indiquée p. 134, ont, dans 200 c. c. de la liqueur d'essai, donné respectivement un accroissement de sucre de 0,63 et de 0,90, gr. Cette orge renfermait donc $\frac{15}{22}$. 90 = 61 de diastase, et comme elle contenait 13,5 % d'eau, la quantité de diastase dans l'orge sèche s'élevait à 70. J'ai examiné sous ce rapport une dixaine d'échantillons d'orge de diverses provenances et, chose curieuse, j'ai trouvé que tous avaient à peu près le même pouvoir fermentatif. Cette propriété explique pourquoi l'orge, qui, à la température ordinaire, ne cède à l'eau que 8 % env. de matières solubles, peut, lorsqu'on la fait digérer longtemps dans de l'eau à 60°, lui en abandonner plus de 50 %, quantité qui correspond à la presque totalité de l'amidon; la filtration n'est pas commode et présente beaucoup plus de difficultés que celle du malt, mais elle peut cependant donner un liquide complètement clair.

L'assertion émise par M. O'Sullivan, que la diastase n'attaque pas l'amidon dans son état naturel, avant qu'il soit transformé en empois, semble être en contradiction avec les résultats fournis par l'expérience. On sait en effet que la concentration de l'extrait de malt croît d'autant plus qu'on prolonge plus longtemps la macération et élève davantage la température, sans toutefois qu'elle atteigne celle de la formation de l'empois, ce qui prouve évidemment que le ferment agit et transforme lentement les substances insolubles en substances solubles. Cependant, toute vérification faite, les observations de M. O'Sullivan se sont trouvées exactes; mais, comme l'a fait voir M. Baranetzky [1]), cette contradiction n'est qu'apparente, M. O'S. s'étant pour ses expériences exclusivement servi de fécule de pommes de terre, qui, à l'état naturel, est attaquée bien plus difficilement par la diastase que l'amidon des céréales. En répétant les expériences de M. O'S. avec de l'amidon de froment, j'ai trouvé que l'extrait de malt pouvait en dissoudre une quantité sensible déjà à la température ordinaire, et encore davantage à des températures plus élevées mais inférieures à celle de la formation de l'empois, par ex. à 50°. Dans la dissolution ainsi obtenue, la maltose était toujours l'élément de beaucoup prédominant, ce qui s'explique facilement, la diastase s'y trouvant en très grand excès.

---

[1]) Stärkeumbildende Fermente, pag. 38.

Développement du pouvoir fermentatif pendant la préparation du malt.

Pour étudier l'accroissement de la diastase pendant la germination, on a chaque jour, à 9 h. du matin, pris dans la brasserie un échantillon du même tas de malt, et pour qu'il représentât autant que possible un échantillon moyen, on a eu soin d'en prendre une quantité assez grande (2—3 Kilo.) en la recueillant par petites portions dans différents points du tas. Cet échantillon a ensuite été traité de la même manière, etc. jusqu'à ce qu'on ait obtenu deux échantillons de 25 gr. outre un troisième plus petit qui a servi au dosage de l'eau. La diastase à été dosée dans les deux premiers, de sorte que chacun des nombres ci-dessous est la moyenne de deux expériences, qui du reste ont en général donné des résultats bien concordants. Relativement au traitement des échantillons en ce qui concerne la méthode d'extraction, nous renverrons à la p. 136.

Pour ce qui regarde la marche de la fabrication, nous nous bornerons aux indications suivantes: l'orge est mise à mouiller pendant 72 heures, la préparation proprement dite du malt dure 8 jours. Pendant les premières 24 heures l'orge reste amoncelée en un tas élevé, et pendant les 7 jours suivants, elle est disposée en une couche plate dont l'épaisseur va toujours en diminuant, et qu'on retourne 2 fois par jour, à 6 h. du matin et à 6 h. du soir. La température du malt varie entre 15 et 20—21° C. environ.

Parmi plusieurs séries d'expériences de ce genre, nous mentionnerons ici les deux suivantes:

A. Malt écrasé à l'état humide.

Séjour dans le germoir.	Matière sèche contenue dans le malt.	Pouvoir fermentatif		Accroissement du pouvoir fermentatif. (malt anhydre).
		du malt humide.	du malt anhydre.	
1 jour	54 %	38	70	
2 jours	56 -	41	73	3
3 —	54 -	43	80	7
4 —	57 -	60	105	25
5 —	58 -	87	150	45
6 —	60 -	114	190	40
7 —	60 -	132	220	30
8 —	62 -	140	226	6

(Pouvoir fermentatif de l'orge anhydre = 74).

B. Malt rapidement sèché en une couche mince et moulu ensuite au moulin.

Séjour dans le germoir.	Matière sèche contenue dans le malt.	Pouvoir fermentatif		Accroissement du pouvoir fermentatif (malt anhydre).
		du malt humide.	du malt anhydre.	
1 jour	53 %	36	68	
2 jours	54 -	36	67	— 1
3 —	57 -	43	75	8
4 —	60 -	59	98	23
5 —	59 -	83	140	42
6 —	62 -	113	183	43
7 —	60 -	127	211	28
8 —	62 -	135	218	7

(Pouvoir fermentatif de l'orge anhydre = 73).

Le pouvoir fermentatif de l'orge est donc resté à peu près le même après 3 jours de mouillage, et ne varie pas beaucoup non plus pendant les 3 premiers jours du maltage. Puis survient un accroissement rapide surtout le 5e et le 6e jour, pendant lesquels la germination est aussi la plus active. A partir de cette période, l'accroissement se ralentit de nouveau, et il est très faible du 7e au 8e jour. Le malt est alors étendu en une couche assez mince et les germes sont en train de se flétrir. Au total, le pouvoir fermentatif a pendant la fabrication du malt pris un accroissement tel, qu'il est 3 fois plus grand dans le malt vert que dans l'orge, tous les deux étant pris à l'état anhydre.

Diminution du pouvoir fermentatif pendant le touraillage.

Les échantillons ont été pris sur le plateau de la touraille avec les mêmes précautions qu'on a observées dans les expériences précédentes pour obtenir un échantillon moyen. C'était cependant plus difficile ici, comme le malt a une température très différente dans le haut et le bas de la couche; aussi a-t-on d'abord eu soin de la bien retourner dans les points où l'on a pris l'échantillon.

Le séchage se fait dans une touraille ordinaire à deux plateaux. Le malt est répandu sur le plateau supérieur à 10 h. du matin; 24 heures après, on le fait passer sur le plateau inférieur, où il reste encore 24 heures. Toute l'opération prend ainsi 2 jours. On retourne toutes les 3 heures, pendant le jour, la couche du plateau supérieur; pendant la nuit le malt est abandonné à lui-même, et le lendemain matin on le retourne enfin deux ou trois fois sur le plateau inférieur, après quoi on n'y touche plus jusqu'au déchargement de la touraille.

La température est observée sur 3 thermomètres, dont un est placé au-dessous du plateau inférieur, un autre entre les deux plateaux et le troisième, au-dessus du plateau supérieur. La moyenne des indications des deux premiers thermomètres donnera alors la température moyenne du malt sur le plateau inférieur, et celle des deux derniers, sa température moyenne sur le plateau supérieur. De cette manière, on obtient une indication bien plus exacte de la température du malt qu'en observant un thermomètre placé dans la couche elle-même. La marche des 3 thermomètres, abstraction faite de quelques petits écarts, peut être représentée comme il suit:

Heure.	Sous le plateau inférieur.	Entre les deux plateaux.	Au-dessus du plateau supérieur.
10 h. du matin	65 °	48 °	38 °
12 —	69 °	53 °	—
2 h. du soir	72 °	57 °	29 °
4 —	77 °	63 °	—
6 —	82 °	68 °	—
7 —	87 °	70 °	—
8 —	78 °	71 °	31 °
5 h. du matin	67 °	55 °	42 °
10 —	65 °	48 °	—

D'après ce tableau, la température moyenne du malt, à 2 h. du soir, sera donc:

sur le plateau inférieur = 65 °,
— — supérieur = 43 °.

Les températures n'ont pas été observées lors de la prise des échantillons, mais on les a calculées à l'aide du tableau.

Parmi plusieurs séries d'expériences, nous donnerons la suivante:

Plateaux de la touraille.	Heure.	Température.	Matière sèche contenue dans le malt.	Pouvoir fermentatif	
				dans le malt humide.	dans le malt anhydre.
Supérieur	$11^1/_2$ du matin	41 °	56,5 %	125	221
—	3 du soir	44 °	58,9 -	124	210
—	$5^1/_2$ —	48 °	61,1 -	123	202
—	$7^3/_4$ —	51 °	64,1 -	125	195
—	11 —	49 °	69,5 -	135	195
—	$7^1/_4$ du matin	49 °	88,8 -	141	159
Inférieur	11 —	59 °	92,9 -	162	173
—	4 du soir	70 °	94,7 -	147	155
—	$10^1/_2$ —	68 °	96,6 -	113	117
—	7 du matin	61 °	95,7 -	96	100

Comme on le voit, le pouvoir fermentatif va toujours en diminuant; le seul écart qu'on observe, à savoir 159, sur le plateau supérieur, à 7 h. $^1/_4$ du matin, contre 173 sur le plateau inférieur, à 11 h. du matin, doit provenir de ce qu'on n'a pas réussi ici à prendre de vrais échantillons moyens. Dans cette série d'expériences, la réduction la plus forte s'est manifestée de 4 h. à 10 h. $^1/_2$ du soir sur le plateau inférieur; dans d'autres séries, elle a souvent eu lieu plus tôt; mais, dans tous les cas, le résultat final a été que le pouvoir fermentati est réduit environ de moitié par la méthode de séchage décrite ici.

Influence de la concentration sur la production du sucre.

Comme nous l'avons déjà fait remarquer p. 128, les expériences sur la production du sucre dans des dissolutions de concentration variable appartiennent, à proprement parler, à la première partie. Mais, avec la méthode qui y a été employée, on réussirait difficilement à produire de grands changements dans la concentration; du moins un empois plus épais que celui dont on a alors fait usage ne pourrait guère servir. Par contre, en employant le liquide décrit p. 131, on peut facilement faire varier la concentration de 10 %. Elle ne saurait être poussée beaucoup plus loin, car ayant essayé d'évaporer la dissolution jusqu'à une concentration de 20 % environ, elle s'est prise après le refroidissement en une masse blanche solide.

Avec un liquide contenant 10 % de matière sèche et 0,95 % de sucre, j'ai fait les expériences suivantes:

A. 25 c. c. (avec 0,93 gr. de sucre) ont été soumis à l'action de 0,5 c. c. d'extrait de malt (pendant 20 minutes, à 57°). Accroissement du sucre = 0,390 gr., R = 25.

B. 100 c. c. (avec 0,93 gr. de sucre) ont été traités de la même manière par 0,5 c. c. d'extrait de malt. Accroissement du sucre = 0,395 gr., R = 13.

C. 25 c. c. ont été dilués jusqu'à 100 et traités ensuite par la même quantité d'extrait de malt. Accroissement du sucre = 0,355 gr., R. = $23^1/_2$.

En comparant les expériences A et C, on voit qu'il y a dans toutes les deux le même rapport entre le ferment et la substance soumise à son action, seulement la dissolution est 4 fois plus étendue dans C que dans A. Dans A et B. la concentration est la même, mais le volume est différent, ce qui, pour des pouvoirs réducteurs aussi bas, ne produit aucune différence essentielle; dans B et C c'est l'inverse, et nous trouvons aussi ici la même différence qu'entre A et C.

2 autres séries d'expériences ont donné des résultats tout à fait analogues et, pour cette raison, nous nous abstiendrons de les décrire.

Par conséquent, le poids de sucre produit par la même quantité de diastase, toutes conditions égales d'ailleurs, décroît un peu lorsque la dissolution où se fait la réaction devient plus faible; mais, dans les limites que nous considérons ici, cette différence est assez insignifiante. On peut donc bien négliger cette influence en ce qui concerne des dissolutions dont la concentration ne diffère pas beaucoup, d'où cette règle, que des quantités égales de diastase, agissant à la même température et pendant le même temps, produisent tout autant de sucre, que la dissolution soit un peu plus forte ou un peu plus faible. Les poids de sucre qui sont produits par des quantités différentes de diastase leur restent donc proportionnelles, lors même que la réaction a eu lieu dans des liquides de concentration un peu différente, loi qui n'est pas de peu d'importance pour la comparaison des observations faites avec des liqueurs d'essai différentes.

Toutefois il va sans dire que cette loi touchant le peu d'influence de la concentration, ne subsiste qu'aussi longtemps que la production du sucre se maintient dans des limites telles, que la loi de la proportionnalité reste en vigueur pour toutes les dissolutions. Lorsqu'on a atteint la réduction maximum dans les dissolutions faibles, une nouvelle addition de ferment n'y augmentera pas sensiblement la proportion du sucre, mais elle le fera dans des dissolutions plus concentrées, de sorte que la même quantité de diastase produira en ce cas beaucoup plus de sucre dans ces dernières dissolutions que dans les premières (comp. l'action de la même quantité de diastase sur des volumes différents de la liqueur d'essai, p. 134 et 135). Enfin, si la quantité de ferment employée est assez grande pour qu'on atteigne la réduction maximum dans toutes les dissolutions, le sucre produit sera à peu près proportionnel à la concentration de la dissolution et assez indépendant de la diastase; c'est donc précisément la loi inverse qu'on observe ici. Ces propositions ont été confirmées par des expériences directes, mais elles sont du reste de simples conséquences de ce que nous avons exposé p. 117—120.

Influence des corps étrangers sur la production du sucre.

C'est un fait connu que beaucoup de corps, par leur présence dans le liquide où le sucre se produit, exercent une grande influence sur la marche de la réaction. Relativement à la manière dont cette influence se manifeste, on a seulement dans quelques cas (par l'addition de petites quantités d'acides étendus) cru observer un accroissement dans l'action de la diastase. Par contre, il y a un grand nombre de corps de nature très différente qui affaiblissent cette action, ou qui, ajoutés en plus forte proportion, l'arrêtent complètement. Tels sont les alcalis, les acides étendus en grande quantité, la plupart des sels des métaux lourds, les combinaisons arsénicales, l'alun, le borax, etc. Beaucoup de corps qui ont une action toxique sur les organismes, agissent également comme des poisons sur ce ferment non organisé.

En introduisant un de ces corps étrangers dans la liqueur d'essai, nous ajoutons un cinquième facteur aux 4 déjà connus (p. 112) qui règlent la production du sucre, et nous pouvons étudier son influence par la méthode qui nous a servi jusqu'ici, c'est-à-dire en le faisant varier pendant que les quatre autres restent constants. Nous ferons donc agir des quantités égales de diastase, à la même température et pendant le même temps, sur des volumes égaux d'une dissolution d'amidon contenant des quantités variables de la substance

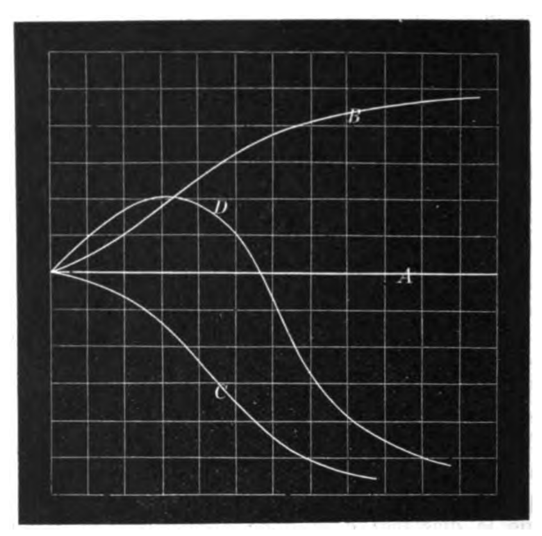


Schéma général de l'influence des corps étrangers sur la diastase.

dont on veut examiner l'action sur la diastase. Tandis que les recherches antérieures ont, en général, été seulement qualitatives, on pourra, par ce procédé, déterminer le rapport existant entre la quantité des corps étrangers et le changement subi par le pouvoir fermentatif, et dresser une liste de ces corps en les rangeant d'après leur action sur la diastase. Ces expériences peuvent aussi être représentées graphiquement, en prenant pour ordonnées les accroissements du sucre et pour abscisses les poids des corps étrangers (exprimés en grammes ou en équivalents). On pourrait obtenir ainsi des courbes de 4 types différents (voir le schéma ci-dessus), dont la première A, parallèle à l'axe des abscisses, correspond aux corps indifférents, la deuxième, B, à ceux qui activent l'action de la diastase, la troisième, C, à ceux qui l'entravent, et la quatrième, D, à ceux qui l'augmentent ou la diminuent, suivant qu'on les fait agir en petite ou en grande quantité.

Dans ce qui suit, on trouvera des exemples de courbes des types A, C et D, mais je ne connais pas d'exemple caractérisé d'une courbe du type B (voir cependant la strychnine p. 152).

Dans toutes ces expériences, la production du sucre a été limitée de manière que le pouvoir réducteur est resté au-dessous de 25. La loi de la proportionnalité s'applique donc à toutes, et les ordonnées, qui représentent les accroissements du sucre, peuvent aussi, sans erreur sensible, exprimer l'action du ferment.

Parmi les corps sans nombre qu'il pouvait être question d'examiner ici, j'ai naturellement dû me contenter de faire un choix très limité. J'ai surtout pris ceux qui pouvaient être considérés comme des types d'un grand groupe, ou dont on pouvait avec quelque vraisemblance attendre une action particulière. Ils peuvent être rapportés aux divisions suivantes:

1. Sucres.
2. Acides et alcalis étendus.
3. Sels des métaux lourds.
4. Divers autres sels.
5. Acide phénique, acide salicylique.
6. Alcaloïdes.
7. Alcool.

1. Sucres.

Plusieurs savants ont admis, après M. Payen, que l'accumulation du sucre dans une dissolution entrave et finit par arrêter complètement l'action de la diastase. Il importait donc de rechercher quelle est l'action qui résulte d'une addition de sucre dans le liquide, notamment de l'espèce de sucre qui est elle-même le produit principal de la transformation de l'amidon, à savoir la maltose.

Nous avons vu dans ce qui précède qu'on peut facilement, avec la diastase, obtenir jusqu'à 66—68 % de maltose, mais qu'il est très difficile de dépasser cette limite. Il était donc à supposer que si, avant de faire agir la diastase, on ajoutait au liquide un poids de maltose tel que la matière sèche en contînt 66—68 %, l'action du ferment serait nulle ou très faible. Pour éclaircir cette question, on a fait les expériences suivantes:

La liqueur d'essai renfermait par 100 c. c. 3,35 gr. de matière sèche, dont 0,39 gr. de sucre = 0,59 gr. de maltose.

Expérience A.

100 c. c. du liquide ont été étendus jusq'à 130. Ce volume contient 2,76 gr. de dextrine.
0,59 — de maltose.

3,35 gr. de matière sèche, où la maltose n'entre que pour 17,6 % (R = 11,5). Dans 50 c. c. du liquide dilué, qui à l'origine renfermaient 0,227 gr. de maltose, on en a trouvé 0,485 gr. après digestion avec 0,25 c. c. d'extrait de malt, ce qui donne un accroissement de 0,258 gr.

Expérience B.

A 100 c. c. du liquide on a ajouté 5,10 gr. d'hydrate de maltose = 4,84 gr. de maltose anhydre[1]), et la dissolution a été étendue jusqu'à 130. Elle contient alors

2,76 gr. de dextrine
5,43 - de maltose.

8,19 gr. de matière sèche, où la maltose entre pour 66,3% (R = 44). Dans 50 c. c. du liquide dilué, qui renfermaient d'abord 2,090 gr. de maltose, on en a trouvé 2,330 gr. après digestion avec 0,25 c. c. d'extrait de malt, ce qui donne un accroissement de 0,240 gr.

Ces expériences ont ainsi donné ce résultat remarquable, que des quantités égales de diastase, toutes conditions égales d'ailleurs, produisent à très peu de chose près des quantités égales de maltose, que la dissolution où la réaction a lieu ait un pouvoir réducteur égal à 44 ou à 11,5 seulement.

Ce résultat, au premier abord, semble être en contradiction avec ce qui a été exposé plus haut. Nous avons en effet, à plusieurs reprises, fait observer que la production du sucre s'arrête pour ainsi dire lorsque la réduction a atteint 44, et, quoique ce ne fût pas tout à fait correct, nous avons appelé cette valeur le maximum du pouvoir réducteur. Cependant, dans l'expérience B, nous avons opéré avec une dissolution dont le pouvoir réducteur était 44, et la production du sucre n'en a pas moins été aussi active que dans la dissolution pauvre en sucre de l'expérience A. Mais il faut se rappeler que, lorsque nous avons vu la production du sucre s'arrêter à la limite de R = 44, la dissolution avait en même temps subi un autre changement qui se manifestait par l'absence de la réaction avec l'iode. La dissolution de l'expérience B est bien identique avec cette dernière en ce qui concerne la proportion du sucre, mais elle en diffère par la nature des autres substances qu'elle renferme, et qui consistent ici en dextrines basses, que l'iode colore en bleu ou en violet. Nos expériences nous apprennent donc seulement que l'action de la diastase sur les dextrines basses que colore l'iode, n'est pas influencée ou ne l'est que très peu par la présence de quantités plus ou moins grandes de maltose.

Qu'une addition de glucose soit également sans influence, cela ne pourra surprendre après ce qui précède. Les expériences à ce sujet ont été exécutées absolument de la même manière que les précédentes, et je me dispenserai aussi de les mentionner plus en détail.

[1]) On a préparé la maltose en soumettant à une dialyse une dissolution de maltose et de dextrine obtenue, comme à l'ordinaire, en faisant agir de l'extrait de malt sur de l'empois d'amidon à 55—60°. Après que le liquide dialysé a été évaporé au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse, la maltose cristallise avec une grande facilité, de sorte que le tout, au bout de quelques jours, se prend en une masse cristalline. On presse ensuite celle-ci pour la débarrasser de l'eau-mère et la fait cristalliser de nouveau dans l'alcool.

M. Baranetzky („Stärkeumbildende Fermente", p. 31) a également fait des expériences sur la production du sucre avec de l'empois contenant de la glucose; il est arrivé au même résultat, mais croit cependant que la maltose doit se comporter autrement (ibid. p. 33).

Il reste donc la possibilité que la maltose ait une influence réprimante sur la transformation de l'achroodextrine par la diastase. M. Musculus maintient, il est vrai, dans ses derniers travaux, l'existence de „dextrines inattaquables", qui ne se laissent pas transformer en sucre même après avoir été soumises pendant une année entière à l'action de la diastase. Mais il ne ressort pas clairement de son travail s'il a réellement isolé cette dextrine et fait agir sur elle la diastase, ou s'il conclut qu'elle est inattaquable de la circonstance que la dissolution, après un si long espace de temps et malgré des additions répétées de diastase, renferme encore de la dextrine conjointement avec le sucre. Dans ce cas, il est évident que l'arrêt que subit cette transformation peut aussi bien être dû à une influence réprimante du sucre qu'à la nature de la dextrine.

Pour résoudre la question il fallait, à l'aide d'un grand excès de diastase, pousser la production du sucre assez loin pour que l'iode ne donnât plus de coloration, puis se débarrasser de la plus grande partie du sucre par la fermentation ou la précipitation par l'alcool, et soumettre la dextrine restante à une nouvelle action de la diastase. Après avoir été transformés en empois, 250 gr. d'amidon ont été traités pendant plus d'une heure par 400 c. c. d'extrait de malt et portés ensuite à l'ébullition. La dissolution contenait 8 % de matière sèche et 4 % de sucre (6 % de maltose), d'ou $R = 50$. L'iode ne donnait qu'une faible coloration jaune. On a alors ajouté de la levûre basse, bien purifiée par des tamisages et des lavages, en quantité telle que sa matière sèche équivalait à 2—3 % de la maltose-dextrine. Au bout de 8 jours de repos à 15°, la fermentation était terminée et le liquide s'était éclairci. Après filtration, évaporation de l'alcool, neutralisation de l'acide libre dû à la fermentation et dilution convenable, on a trouvé que ce liquide contenait 2,86 % de matière sèche et 0,37 % de sucre, correspondant à $R = 13$. Nous avons donc ici un liquide à peu près identique quant à la teneur en sucre avec celui de l'expérience A, mais dont la dextrine est d'une autre nature. On n'a pas poussé plus loin la purification de la dextrine en précipitant par l'alcool.

On a alors fait digérer 100 c. c. du liquide avec différentes quantités d'extrait de malt (pendant 20 minutes, à 57°) et déterminé l'accroissement du sucre. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant:

c. c.							Accroissement du sucre.
100 de la dissolution	de	dextrine	+ 0,5	c. c.	d'extrait	de malt	0,03 gr.
—	—	—	+ 2	—	—	—	0,03 —
—	—	—	+ 5	—	—	—	0,04 —
—	—	—	+ 10	—	—	—	0,04 —

Comme on le voit, l'action de la diastase sur l'achroodextrine ou la dextrine qui n'est pas colorée par l'iode, est extrêmement faible, même après l'élimination de la plus grande partie du sucre, et le

débat qui s'est élevé sur ce point entre MM. Payen et Musculus doit donc être résolu en faveur de ce dernier.

En examinant les différentes courbes représentées dans la première partie, on voit que l'achroodextrine (ou les dextrines), même en présence de grandes quantités de sucre, subit peu à peu l'action de la diastase, et si cette action est faible, elle est du moins aussi forte que celle que nous avons vu la diastase produire, dans les expériences précédentes, sur l'achroodextrine presque exempte de sucre. Par conséquent, lorsqu'on observe dans les distilleries une action tardive de la diastase pendant la fermentation, cette action n'est pas subordonnée à l'élimination du sucre, mais elle est due seulement au long espace de temps pendant lequel la diastase a l'occasion d'agir. En abandonnant à elle même la trempe pendant le même temps et dans les mêmes conditions, mais sans fermentation, la transformation en sucre atteindrait certainement les mêmes limites, dans la supposition bien entendu que la putréfaction ne vînt pas la troubler.

Comme on le verra plus loin, la production du sucre peut être réduite d'une manière sensible par les acides et les alcalis, même si la dissolution n'en renferme que des quantités si petites que le papier de tournesol n'en accuse pas la présence. On pourrait donc objecter contre les expériences précédentes que la neutralisation n'a peut-être pas été assez complète, et chercher dans cette circonstance la cause pour laquelle la diastase n'a pas agi sur la dextrine. Quoiqu'il ne fût guère possible d'expliquer de cette façon la complète inactivité de quantités si considérables d'extrait de malt, on a cependant, pour plus de sûreté, fait l'expérience suivante:

100 c. c. de la dissolution de dextrine ont été mélangés avec 100 c. c. de la liqueur d'essai ordinaire, et le tout a été additionné de 2 c. c. d'extrait de malt. On a trouvé un accroissement de sucre de 0,50 gr. (le pouvoir réducteur du liquide s'est élevé de 11,5 à 26). Nous avons employé ici la production du sucre elle-même comme réactif d'une réaction neutre dans la dissolution de dextrine, et trouvé que celle-ci n'a pas empêché l'extrait de malt d'exercer une action énergique sur le liquide d'essai.

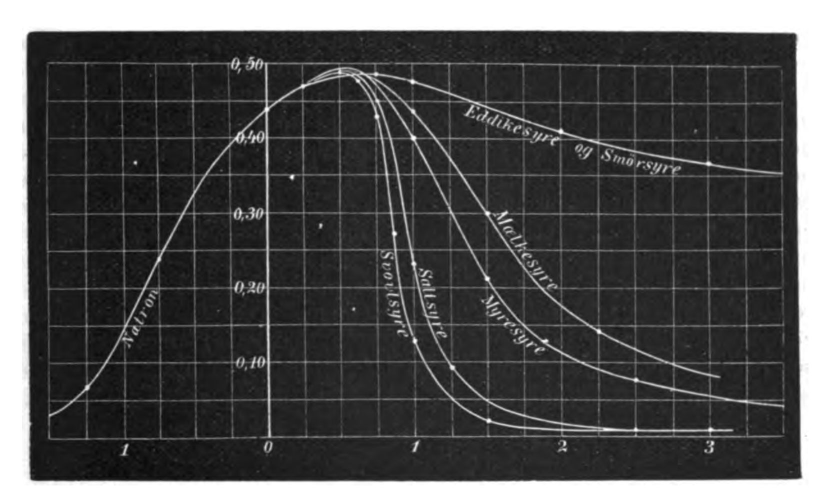
2. Acides et alcalis étendus.

De tous les corps, les acides et les alcalis étendus sont ceux qui exercent sur la diastase l'action la plus remarquable et la plus énergique, action qui du reste peut varier dans des limites assez étendues, les conditions restant en apparence les mêmes.

A 8 portions de 100 c. c. chaque de la liqueur d'essai, on a ajouté différentes quantités d'un acide sulfurique normal étendu au $\frac{1}{40}$ (1 c. c. = 1 milligramme de $S\,O^3$), et on les a ensuite, comme à l'ordinaire, traitées par 0,75 c. c. d'extrait de malt. Les accroissements du sucre, dans ces 8 portions, sont indiqués dans le tableau suivant:

Cent. cub. d'acide sulfurique normal au $^1/_{40}$.	Accroissement du sucre.
0	0,44 gr.
1	0,47 —
2	0,49 —
$2^1/_2$	0,48 —
3	0,43 —
$3^1/_2$	0,27 —
4	0,13 —
6	0,02 —
10	0,01 —

On voit par là qu'une petite quantité d'acide sulfurique, comme M. Leyser l'a déjà constaté, active l'action de la diastase, mais que celle-ci décroît ensuite avec une très grande rapidité à mesure que la proportion d'acide augmente. Des quantités d'acide d'une petitesse étonnante manifestent encore leur action sous ce rapport. C'est ainsi qu'une augmentation de 3,4 à 3,6 c. c. ($^1/_5$ de millig. de SO^3) réduit de 0,1 gr. l'accroissement du sucre, de sorte qu'une diminution de 5 millig. dans la production du sucre, laquelle peut encore être constatée facilement par l'analyse, est due à une augmentation de $^1/_{100}$ de millig. d'acide dans 100 c. c. du liquide. Comme l'action avec 10 c. c. d'acide sulfurique est un peu plus faible qu'avec 6 c. c., il est clair que l'acide lui-même n'a pu opérer aucune production de sucre.



Action des acides et des alcalis sur la diastase.

L'acide sulfurique (et d'autres acides) donne donc des courbes du type D (cf. p. 144). Les courbes ci-dessus, qui ont pour ordonnées les accroissements du sucre et pour abscisses des centimètres cubes d'acide

normal au $^1/_{10}$, représentent l'action de cet acide et de plusieurs autres. L'acide chlorhydrique est à cet égard voisin de l'acide sulfurique, tandis que les acides organiques, tels que les acides formique, lactique, acétique et butyrique, exercent une action plus faible quoique très différente. La différence frappante que présentent sous ce rapport les acides formique et acétique, qui se rapprochent l'un de l'autre par leur constitution chimique, m'avait fait supposer que les termes suivants de la même série homologue se montreraient peut-être encore plus inactifs; mais l'action de l'acide butyrique, que j'ai examiné dans ce but, a coïncidé exactement avec celle qui est produite par un nombre égal d'équivalents d'acide acétique, comme le fait voir la courbe commune à ces deux acides. En fait d'acides inorganiques non représentés sur la figure, j'ai encore étendu ces recherches à l'acide azotique, dont la courbe tombe entre celles des acides sulfurique et chlorhydrique, et à l'acide phosphorique, dont la courbe est située un peu en dehors de celle de l'acide chlorhydrique. On pouvait présumer que ce dernier acide, qui ne coagule pas l'albumine comme les autres acides minéraux, exercerait une action spéciale vis-à-vis d'un ferment voisin des substances albuminoïdes. Mais cette supposition n'a pas été confirmée par l'expérience, car si l'acide phosphorique a bien une action plus faible que celle des 3 autres acides minéraux, la différence n'est cependant pas plus grande qu'on ne pouvait l'attendre d'un acide plus faible que ces derniers[1]).

Les alcalis libres, même en quantités très petites, exercent une influence réprimante sur l'action du ferment, et donnent par conséquent des courbes du type C (cf. p. 144). Pour faciliter la comparaison, on a construit la courbe de la soude à côté de celles des acides, mais à gauche de l'axe des ordonnées, les abscisses négatives exprimant des centimètres cubes de l'alcali normal au $^1/_{10}$.

Les grandes variations que de petits changements dans la réaction font subir à la production du sucre rendent souvent difficile d'obtenir des résultats concordants par ces expériences. Il n'est ainsi guère possible de déterminer avec une entière certitude le moment où le liquide est neutre, comme la production du sucre et les changements qu'elle éprouve constituent à cet égard le réactif le plus délicat, et il est par suite difficile de fixer bien exactement la position de l'axe des ordonnées sur la figure p. 149. C'est principalement la très faible réaction acide que présente souvent l'amidon, et qu'on ne peut faire complètement disparaître par des lavages, quelque prolongés qu'ils soient, qui donne lieu à des erreurs. Si, par exemple, la quantité d'acide due à cette cause est égale à $\frac{1}{20}$ de centimètre cube d'acide

[1]) L'acide phosphorique a été préparé en décomposant par l'hydrogène sulfuré un précipité de phosphate de plomb. On a considéré Na^2HPO^4 comme le sel neutre, de sorte que 1 c. c. d'acide phosphorique normal au $^1/_{10}$ doit renfermer 0,00355 P^2O^5. Il faut doser cet acide par l'analyse ordinaire, comme on ne peut employer les liqueurs titrées.



normal par 100 c. c. du liquide[1]), il faudra déplacer l'axe des ordonnées de 0,5 à droite, et comme toutes les courbes commencent à s'infléchir à peu près à partir de ce point, on sera induit à en conclure une nocuité absolue de l'action des acides et à rapporter les courbes au groupe C au lieu du groupe D (cf. p. 144). C'est ainsi que, dans mes premières expériences, j'ai déjà, après l'addition de 1 c. c. d'acide chlorhydrique normal au $\frac{1}{40}$, constaté une diminution sensible dans la production du sucre, effet que je ne puis m'expliquer autrement que par cette cause. Comme il n'est pas à supposer que le liquide dépasse le point de neutralité du côté opposé, c'est-à-dire renferme de l'alcali libre, l'axe des ordonnées ne peut guère être déplacé davantage vers la droite, mais il faut peut-être le reculer vers la gauche un peu plus que ne l'indique sa position sur la figure.

Mais, abstraction faite de ces difficultés, il semble que l'action des acides sur différents extraits de malt peut varier. Le même acide, par exemple, peut agir plus ou moins sur deux extraits qui, sous tous les autres rapports, se comportent d'une manière identique. Il en est de même de l'action des alcalis. Les rapports entre les différents acides tels que les courbes les indiquent, ne restent pas non plus toujours invariables. J'ai ainsi eu affaire à quelques extraits, sur lesquels l'acide chlorhydrique avait une action aussi forte que l'acide sulfurique, et l'acide formique n'agissait pas plus fortement que l'acide lactique, etc., sans que ces extraits semblassent, sous d'autres rapports, différer des extraits ordinaires.

3. Sels des métaux lourds.

Dans cette série et la suivante, on n'a fait que quelques expériences isolées, toutes avec 100 c. c. de la liqueur d'essai et 0,75 c. c. d'extrait de malt, comme dans les précédentes.

$^1/_{10}$ de gr. d'azotate de plomb, de sulfate de zinc ou de protoxyde de fer, a réduit de plus de 80 % l'accroissement normal du sucre, tandis qu'avec $^1/_2$ gr. de sulfate de protoxyde de manganèse, c'est-à-dire une quantité quintuple, cet accroissement n'a varié que de 7 %. Le sel de manganèse réduisant lui-même la liqueur de Fehling, il faut l'éliminer avant de titrer le sucre, et on y parvient facilement en le précipitant par le sulfhydrate d'ammoniaque, après quoi on filtre, traite le liquide filtré par le sulfate de zinc pour se débarrasser du sulfhydrate en excés et filtre de nouveau. On peut alors doser le sucre avec la liqueur titrée, car cela ne fait rien que le protoxyde de cuivre soit mêlé d'un peu d'oxyde de zinc, qui se précipite par l'ébullition.

Comme on sait, les sels de zinc et de fer ont une réaction acide tandis que ceux de manganèse sont neutres. Si nous rapprochons ce

---

[1]) Dans l'extrait de malt qui a servi à la préparation du liquide, on avait au préalable neutralisé l'acide par la soude, en employant en moyenne 9 c. c. de soude normale au $^1/_{10}$ par 100 c. c. d'extrait de malt.



fait de la manière toute différente dont les sels de ces trois métaux voisins se comportent vis-à-vis de la diastase, et de l'action énergique que nous venons de constater chez les acides libres, on ne pourra s'empêcher de penser que l'action de la plupart des sels métalliques sur la diastase doit en partie être attribuée à la circonstance qu'ils sont d'une certaine façon à considérer comme des sels acides.

4. Divers autres sels.

Si l'on représente par 100 l'accroissement du sucre avant l'addition des sels, cet accroissement devient après l'addition de

0,013 gr. borax	60
0,050 — —	5
0,100 — alun	2
0,500 — arséniate de soude	20
0,500 — chlorure de sodium	90
avec le liquide saturé de sulfate de chaux	88

Il se produit donc dans tous les cas une diminution dans la production du sucre. Avec les sels neutres, le chlorure de sodium et le sulfate de chaux, elle est très insignifiante bien qu'on en ait ajouté une grande quantité. Mais le borax et l'alun en ont produit une très forte, ce qui cependant doit peut-être plutôt être attribué à leur qualité de sels acides qu'à une action toxique spécifique. Par contre, il est à supposer que l'arséniate de soude a exercé une action de ce genre.

5. Acide phénique, acide salicylique.

Sans addition	100
0,200 gr. acide phénique	89
0,400 — —	70
0,030 — acide salicylique	10
0,100 — —	0

Ces deux antiseptiques exercent donc une action très différente sur la diastase, l'acide salicylique agissant comme un poison énergique et l'acide phénique comme un poison très faible. Si l'on se rappelle que le premier est un acide bien caractérisé, tandis que le second a à peine le caractère d'un acide, cela suffira sans doute à expliquer leur action sur la diastase, sans qu'on ait besoin de la mettre en connexion avec leurs propriétés antiseptiques.

6. Alcaloïdes.

On a seulement étudié l'action de la strychnine à l'état d'azotate à doses variant de 0,010 à 0,250 gr. Dans aucun cas, on n'a observé une diminution dans l'accroissement du sucre, mais le plus souvent une légère augmentation (102—105 pour 100).

La diastase, sur laquelle agissent un si grand nombre de poisons inorganiques, est laissée ainsi presque intacte par ce violent poison organique. On trouve ici une analogie avec plusieurs organismes inférieurs, par exemple la levûre.

7. Alcool.

Cette recherche présente un intérêt pratique en tant que l'action tardive exercée par la diastase pendant la fermentation dans les distilleries a lieu en présence d'une quantité considérable d'alcool.

Pour étudier l'action d'une substance aussi volatile il a fallu modifier un peu la méthode employée jusqu'ici, et, au lieu d'opérer dans un bocal, on a mis le mélange du liquide et de l'alcool dans un flacon communiquant avec un tube réfrigérant incliné vers le haut, et où l'on a procédé aussi bien à la production du sucre qu'à l'ébullition.

	Accrois. du sucre.
100 c. c. de liquide + 0,75 c. c. d'extrait de malt sans addition d'alcool	0,53 gr.
avec addition de 10 c. c. d'alcool à 93 % Tr.	0,28 —

L'alcool a ainsi réduit de moitié l'accroissement du sucre. Il n'est donc pas sans influence sur la diastase, mais si l'on tient compte des proportions relatives de l'alcool et de l'extrait de malt, on doit le considérer comme un poison très faible, 10 c. c. d'alcool ayant à peine exercé la même action que 1 milligramme d'acide sulfurique.

Recherches sur la ptyaline (diastase de la salive).

Le ferment de la salive (ptyaline) ressemble beaucoup à celui du malt. De même que ce dernier, il n'exerce pas une grande action sur l'amidon dans son état naturel, mais dissout rapidement l'empois en le transformant en sucre et en dextrine. Aussi ce ferment joue-t-il un rôle important dans la digestion des féculents cuits.

Le plan qui a été suivi dans l'étude de la diastase peut être appliqué avec le même succès aux recherches sur la ptyaline. Les deux ferments étant très voisins, il était naturel qu'étudiant l'un on prît aussi l'autre comme terme de comparaison. Mais comme les questions qui s'y rapportent sont plutôt du ressort de la physiologie animale et, par suite, n'entrent pas dans le programme du laboratoire de Carlsberg, et que, d'un autre côté, une grande partie de ce que nous avons exposé sur la diastase s'applique également à la ptyaline, le plan de ces recherches a été très abrégé et ne comprend que les questions qui ont été traitées dans les sections I (p. 117) et II (p. 121) relativement à la diastase.

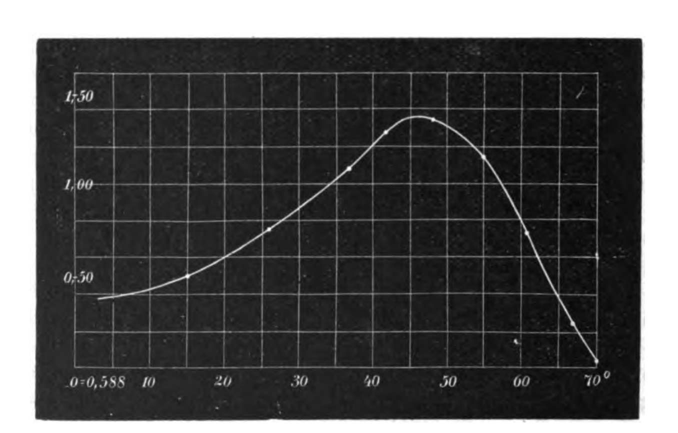
Les expériences ont été faites avec de la salive humaine, où se trouvaient par conséquent mélangées les sécrétions des différentes glandes. Comme le ferment de chacune d'elles peut très bien avoir des propriétés différentes, il faudrait recueillir à part la sécrétion de chaque glande si l'on voulait pousser plus loin ces recherches. Mais mes expériences souvent répétées ont présenté une certaine uniformité qui faisait supposer, ou que les diverses sécrétions étaient mélangées chaque fois dans des proportions presque égales, ou qu'elles ne diffèrent pas beaucoup entre elles quant à la nature de leurs ferments.

On ne trouvera ici rien qui corresponde à la section du chapitre précédent intitulée „Mesure du pouvoir fermentatif". Mais, comme nous le verrons, la méthode qui y a été exposée pour mesurer le pouvoir fermentatif de la diastase est applicable sans changement à la ptyaline, et il pourrait y avoir de l'intérêt à s'en servir pour étudier les proportions et les variations de ce ferment chez différents individus, à différents âges, dans certaines maladies des organes digestifs, dans les cas de forte salivation, etc. La même méthode se laisserait sans doute aussi employer pour des recherches sur le ferment du pancréas, qui exerce sur l'amidon une action bien plus énergique que la ptyaline et a en même temps une importance physiologique bien plus grande.

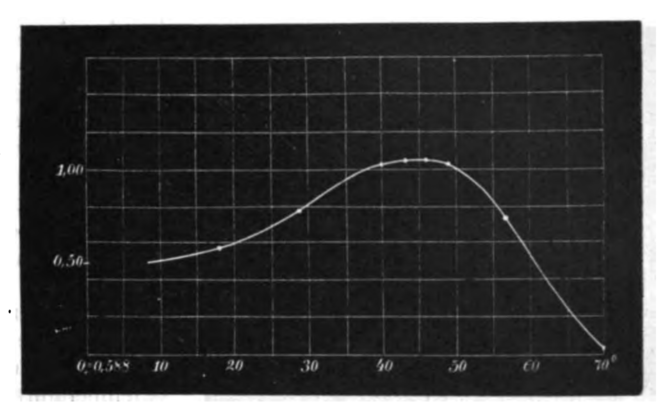
Le liquide qui a servi aux expériences contenait 3,31 % de matière sèche et 0,294 % de sucre. On en a pris chaque fois 200 c. c. (renfermant par conséquent 0,588 gr. de sucre), et on a du reste exactement suivi le procédé décrit p. 129.

Tout d'abord j'ai cherché à déterminer la température optimum de la ptyaline et, en général, l'influence de la température sur son action; en un mot, j'ai construit pour ce ferment une courbe analogue à celle de la p. 123 pour la diastase. J'ai opéré chaque fois sur 1 c. c. de salive additionné de 9 c. c. d'eau distillée, en faisant varier la température de 15 à 70° et en maintenant constante la durée de la digestion (15 minutes). Parmi plusieurs séries d'expériences de cette espèce, deux sont représentées par les courbes ci-après, qui ont pour abscisses les températures et pour ordonnées les accroissements du sucre. Le pouvoir réducteur n'a pas dépassé 30.

A



B



Action de 1 cent. cub. de salive sur 200 cent. cub. de la liqueur d'essai pendant 15 minutes à une température variable.

A

Température.	Accroissement du sucre.
15°	0,50 gr.
26°	0.78 —
37°	1,08 —
42°	1,28 —
48°	1,35 —
55°	1,15 —
61°	0,73 —
67°	0,25 —
70°	0,05 —
72°	0,00 —

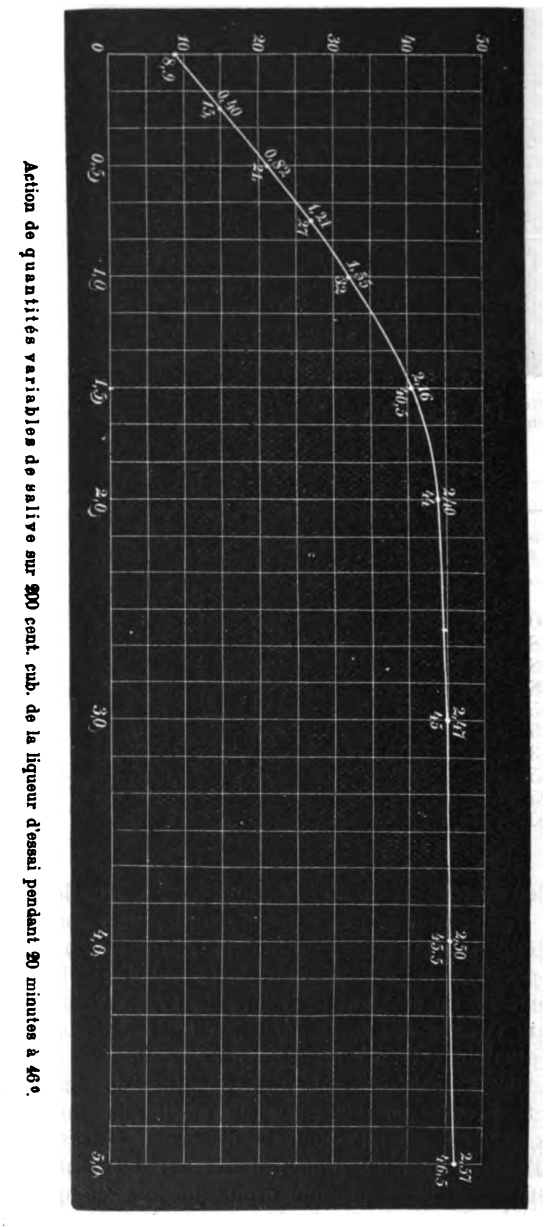
B

Température.	Accroissement du sucre.
18°	0,58 gr.
29°	0,78 —
40°	1,03 —
43°	1,04 —
46°	1,05 —
49°	1,02 —
56½°	0,75 —
70°	0,04 —

On voit que les deux courbes, à côté de quelques écarts de peu d'importance, ont cela de commun que leur maximum correspond à 46°. Comme j'ai obtenu plusieurs fois le même résultat, on peut bien prendre cette température pour l'optimum de la ptyaline; elle est un peu plus élevée que celle du corps et inférieure de 17° à l'optimum de la diastase, qui, nous l'avons vu, correspond à 63°, température à laquelle l'action de la ptyaline est déjà en forte décroissance.

Pour ce qui regarde le rapport entre la quantité de ferment employée et la production correspondante du sucre, il suit pour la ptyaline absolument les mêmes lois que pour la diastase. L'accroissement du sucre est d'abord presque proportionnel au ferment, de sorte que la courbe suit une ligne presque droite jusqu'a ce que le pouvoir réducteur ait atteint les environs de 30; nous retrouvons donc ici la loi de la proportionnalité avec les mêmes limites que pour la diastase. A partir de ce point, l'accroissement du sucre se ralentit et

cesse d'être proportionnel au ferment, la courbe s'infléchit de plus en plus vers l'axe des abscisses, et, lorsque R = 44, elle lui devient presque parallèle en s'élevant seulement d'une manière insensible, et l'accroissement du sucre est extrêmement lent. L'analogie avec la diastase est donc complète.



Action de quantités variables de salive sur 200 cent. cub. de la liqueur d'essai pendant 20 minutes à 46°.

La courbe cicontre représente une série d'expériences de ce genre, où l'on a fait varier la salive de 0,25 à 5 c. c., le temps et la température restant constants (20 minutes et 46°). Les ordonnées sont les pouvoirs réducteurs et les abscisses, les quantités du ferment; auprès de chaque point de la courbe déterminé par l'expérience, on a indiqué le pouvoir réducteur (sous la courbe) et l'accroissement du sucre (au - dessus). Cette courbe, comme on voit, est, sous tous les rapports, identique avec celle (p. 119) qui représente l'action de la diastase.

La courbe p. 134 et la précédente correspondent toutes deux à une digestion de 20 minutes et à la température optimum des ferments respectifs (63° et 46°), et elles peuvent donc servir à comparer l'action de ces ferments. On trouve ainsi que 0,5 c. c. de salive produisent la même quantité de sucre (0,80 gr,) que 1,15 c. c. d'extrait de malt préparé avec 1 partie

de malt touraillé et 4 parties d'eau, ou que 0,5 c. c. d'extrait préparé avec 1 partie de malt et 1,7 partie d'eau. La salive agit donc à cet égard comme un extrait de malt très concentré.

L'activité de la ptyaline est-elle entravée par les mêmes substances qui ont une action toxique sur la diastase? C'est ce que je ne saurais décider avec certitude; mais, à en juger d'après la grande ressemblance que présentent les deux ferments, cela paraît fort probable. De même que la diastase, la ptyaline est très sensible à l'action des acides étendus: 1 c. c. de salive, qui avait donné un accroissement de sucre de 1,55 gr. dans 200 c. c. de liquide, n'a plus donné qu'un accroissement de 0,012 gr. après l'addition de 10 millig. d'acide chlorhydrique. Son action a donc été presque complétement détruite.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques.

Par

Emil Chr. Hansen.

I.

Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature.

C'est surtout par les recherches de M. Pasteur que les physio logistes et les chimistes ont été armenés à s'occuper de l'étude des ferments figurés, de leur développement, de leur activité vitale, de leurs transformations chimiques et de leur distribution dans la nature.

Sur ce dernier point, M. Pasteur a soulevé une question intéressante que j'ai reprise et traitée dans la première partie de ce mémoire.

Dans son livre sur la bière et ses maladies, il appelle à plusieurs reprises l'attention sur ce phénomène, que les levûres (les Saccharomyces) se trouvent seulement sur les raisins mûrs, mais manquent complètement sur ceux qui ne le sont pas[1]). „Où et comment les levûres du raisin prennent-elles naissance?“ demande-t-il. Et il répond lui-même: „Dans les poussières qui se déposent sur les fruits, les pédoncules et les rameaux; et de là elles sont dispersées par les vents“. Ces poussières, il les a examinées avec beaucoup d'assiduité et d'intérêt, et il en donne des dessins et des descriptions. Il suppose que les cellules des levûres naissent de cellules brunes ressemblant au Dematium, qui sont communes ici. Mais, demanderons-nous, quelle est la cause de ce remarquable phénomène? Pourquoi ne trouve-t-on pas les levûres sur les raisins avant leur maturité, et où passent-elles l'hiver? M. Pasteur ne donne là-dessus aucune réponse directe; il semble supposer que ces ferments, pendant ce long intervalle, vivent sur des végétaux sous des formes ressemblant au Dematium, et ne se montrent sous forme de levûre sur les raisins qu'à l'époque de la maturité de ces derniers. Il revient à plusieurs reprises sur cette question et l'on voit clairement avec quel intérêt il l'embrasse, par exemple aussi dans son dernier livre[2]).

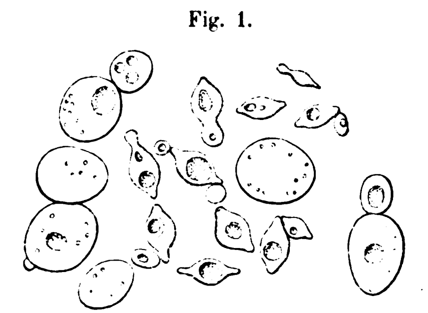
---

[1]) Pasteur. Études sur la bière, 1876, p. 150, 155, 176-178.
[2]) Pasteur, Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation, 1879, p. 66-75.

Un autre physiologiste éminent, M. Brefeld, a exposé cette question presque au même temps que M. Pasteur[1]). Il arrive à ce résultat que c'est dans le corps des animaux, dans les excréments, surtout des herbivores, et dans le fumier qu'il faut chercher le milieu nutritif et l'habitat normal où les Saccharomyces acquièrent leurs propriétés fermentatives.

Après m'être résolu à aborder le même problème, j'ai vu bientôt que, pour donner à mes recherches une base solide, il était nécessaire de procéder par une autre voie que mes devanciers, et de choisir une espèce de levûre qui permît de poser la question d'une manière précise et avec laquelle il fût possible d'expérimenter. En d'autres termes, il fallait choisir une forme facile à reconnaître en tout temps, en sorte qu'on pût toujours savoir avec certitude si elle était présente ou non. Le petit Saccharomyces apiculatus, avec sa forme bien caractérisée et ses remarquables particularités physiologiques, remplit très bien ces conditions. Les cellules des autres espèces de Saccharomyces sont si peu caractéristiques, qu'elles se confondent facilement avec certaines phases du Dematium, du Fumago, de l'Exoascus, etc.

Fig. 1.



Cellules du Sacch. cerevisiæ et du Sacch. apiculatus (Grossisement lin. 950 fois env.).

Comme le montre la Fig. 1, le Sacch. apiculatus type est une petite cellule en forme de citron, pointue à chaque extrémité, longue de 4,5—9, fréquemment de 7 micromillim., et munie souvent d'une grande vacuole. Comme comparaison on a, dans la même figure, représenté quelques cellules de la levûre de bière, le Sacch. cerevisiæ. Elles se distinguent facilement des autres par leur grandeur plus considérable et par leur figure ovale, oviforme ou presque sphérique.

D'après les recherches de M. Reess[2]), le Sacch. apiculatus apparaît souvent en masse dans la fermentation vineuse. Dans beaucoup de cas, sinon dans tout, dit-il, c'est par lui que commence la fermentation principale du vin, après quoi il est chassé par le Sacch. ellipsoi-

[1]) Brefeld, Ueber Gährung II—III (Landwirthschaftl. Jahrb. IV—V. Bd. 1875—1876, p. 408 et 332.

[2]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 26, 28 et 37.

deus et disparaît complètement dans la fermentation secondaire. M. Pasteur l'a aussi habituellement trouvé dans le moût de raisin[1]). Il se rencontre également dans les brasseries belges où l'on emploie la fermentation spontanée, et est très commun dans nos jardins sur les fruits mûrs, doux et juteux. Quand le suc de ces fruits subit la fermentation alcoolique, c'est à lui, suivant M. Engel, que, dans la plupart des cas, elle est due. Il l'a en outre trouvé en grande quantité, associé au Sacch. cerevisiæ, dans la bière d'Obernay[2]), et j'en ai quelquefois observé des cellules mortes dans la lie des tonneaux de bière de garde à Carlsberg.

Dans le cours de mes recherches sur les organismes microscopiques de l'air[3]), en 1878, mon attention s'était portée sur quelques traits généraux relatifs au mode d'apparition du Sacch. apiculatus dans les poussières de l'air. Je fus ainsi amené à penser que cette petite levûre se montrait d'abord sur les fruits doux et juteux qui mûrissaient les premiers, et ensuite sur ceux dont la maturité était plus tardive. Les groseilles à maquereau, dans le jardin de Carlsberg, devaient alors recevoir une de ses premières visites, et les raisins, une des dernières, et c'est en effet ce que je pus constater.

De là à supposer que les fruits doux et juteux constituent sa nourriture normale, il n'y avait également qu'un pas.

La pluie devait aussi, à l'air libre, faire subir aux fruits un lavage semblable à celui que j'exécutais dans le laboratoire, lorsque, de même que M. Pasteur, je désirais étudier le monde organique contenu dans leurs poussières. Celles-ci étaient de cette façon entraînées dans la terre, où gisaient aussi les fruits tombés. Est-ce là l'endroit où le Sacch. apiculatus passe l'hiver? J'avais ainsi, lorsque je publiai mon mémoire, fait une série d'hypothèses, mais je n'avais aucune certitude et évitai, pour cette raison, de me prononcer. Aujourd'hui, après des expériences qui ont duré environ deux ans, j'ai enfin trouvé la solution que je cherchais.

La méthode de recherche que j'ai employée ne comprenait dans quelques cas qu'une simple analyse microscopique; dans d'autres, au contraire, j'ai d'abord entrepris des essais de cultures, pour lesquels je me suis servi des flacons décrits dans mon précédent mémoire, avec du moût houblonné clair et filtré comme liquide nourricier[4]). J'y introduisais les fruits, les échantillons de terre, etc. dont je désirais cultiver les organismes pour chercher si le Sacch. apiculatus se trouvait ou non parmi eux. Ces essais ont été faits avec toutes les précautions nécessaires; les petites bêches, les ciseaux et les couteaux dont je me suis servi étaient au préalable passés dans une flamme pour brûler

---

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148.
[2]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872, p. 30 et 53.
[3]) Emil Chr. Hansen, Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1879, p. 49 du résumé français).
[4]) l. c. p. 50.

les poussières qui pouvaient y adhérer, et après que les flacons avaient été ouverts et avaient reçu les échantillons qui leur étaient destinés, on les recoiffait rapidement avec du papier à filtrer également flambé et qu'on fixait autour de leur col. Dans les cas où, sans culture préalable, j'ai examiné les poussières des fruits, je nettoyais ordinairement ces derniers à l'aide d'un flacon laveur contenant de l'eau distillée, et me servais, comme d'habitude, de l'eau de lavage pour mes préparations microscopiques. Quelquefois aussi je râclais avec un petit couteau, à la surface d'un fruit, l'échantillon que je voulais avoir et le disposais aussitôt sur le porte-objet. Pour étudier les poussières déposées sur l'écorce des arbres, sur les bâtiments, etc., j'ai en recours au procédé suivant. Dans un bocal muni d'un grand bouchon en verre j'introduisais du coton, sur lequel je versais de l'alcool très concentré, et, au bout de quelques jours, je décantais rapidement le liquide en excès, fermais ensuite le bocal avec du papier à filtrer passé au préalable dans une flamme, et l'exposais dans une étuve à une haute température pour faire évaporer le reste de l'alcool. Avec de petites touffes de ce coton ainsi préparé, qui était entièrement exempt de bactéries, de levûres, de moisissures et de tous autres organismes analogues vivants, je recueillais les poussières à examiner et les portais rapidement dans les flacons avec leur liquide nourricier. J'ai de plus fait des analyses des poussières en suspension dans l'air, en partie avec les flacons ci-dessus mentionnés, en partie avec des ballons vides d'air d'une capacité de ½ litre. Après avoir ainsi décrit ma méthode de recherche, je donnerai un court exposé de mes analyses et des résultats auxquels elles m'ont conduit.

Au commencement de juillet 1879, des fruits verts cueillis sur les cerisiers et les groseilliers épineux du jardin furent mis dans un assez grand nombre de flacons, et des échantillons de terre pris sous les mêmes arbres et arbustes, dans des flacons en nombre égal. Au bout de peu temps, toutes les cultures présentaient une riche végétation de différents organismes, mais le Sacch. apiculatus ne fut trouvé que dans les dernières. Je répétai l'expérience et obtins le même résultat. Notre ferment apiculé se trouvait donc bien alors dans la terre mais pas sur les fruits encore verts, et il n'y en avait pas non plus dans l'air, comme le montraient les analyses de ses poussières faites en juin et au commencement de juillet. Ce n'est qu'à la fin de juillet que je l'observai dans l'air. Je dus en conclure que le Sacch. apiculatus ne se rencontrait encore que dans la terre et non au-dessus. Ce fait renfermait déjà la demi-solution du problème et m'indiquait clairement la voie que je devais suivre.

Au commencement d'août, je trouvai constamment cet organisme sur les cerises et les groseilles à maquereau mûres, mais non sur les prunes qui étaient encore vertes. Lorsque ces fruits furent mûrs en septembre, il produisirent aussi de riches végétations; on les récolta à la fin d'octobre. Les raisins ne mûrirent pas cette année là, et bien que, depuis le commencement d'août jusqu'en novembre, j'en prisse de nombreux échantillons pour faire des essais de cultures dans mes flacons, je n'en découvris cependant aucune trace. Par contre, j'en constatais toujours la présence sur les raisins mûrs qu'on achetait

de temps à autre chez les marchands fruitiers. J'arrivai ainsi à ce résultat que le Sacch. apiculatus se rencontre communément sur les cerises, les groseilles à maquereau, les prunes et les raisins mûrs, mais pas du tout ou seulement par exception sur ces mêmes fruits encore verts.

En étudiant par la méthode décrite plus haut les poussières des fruits mûrs ci-dessus mentionnés, j'y ai régulièrement trouvé de nombreuses cellules de Sacch. apiculatus qui souvent étaient en train de bourgeonner, preuve qu'il s'y multiplie. C'était surtout le cas lorsque les fruits avaient des fissures; car, dans ces fissures où le jus abondait, il y en avait toujours un bien plus grand nombre que sur les parties intactes de la peau, et les végétations y étaient aussi les plus vigoureuses. C'est donc un fait acquis qu'on trouve le Sacch. apiculatus sur les fruits mûrs qui précèdent, et que ceux-ci constituent pour lui des milieux nutritifs, ce qui est aussi mentionné par MM. Reess[1]) et Engel[2]). Je l'ai également observé, mais moins communément, sur les fraises, les groseilles, les framboises, les sorbes et les fruits du Berberis.

Mais si les fruits précédents sont l'habitat favori du Sacch. apiculatus et s'ils contiennent sa nourriture normale, il faut prouver non seulement qu'il se trouve en général sur ces fruits et s'y multiplie, mais aussi qu'il n'apparaît pas ailleurs dans les mêmes conditions, ou qu'il ne le fait qu'exceptionnellement. Cette seconde partie de notre démonstration présente par sa nature de plus grandes difficultés que la première. Les recherches à faire dans ce sens doivent naturellement avoir d'abord pour objet de constater si on le rencontre sur les fruits, les feuilles et les branches des autres arbres et arbustes du jardin et des bois. Dans ce bût j'ai surtout examiné le tilleul, l'érable, le hêtre, le chêne et l'aubépine, mais le plus souvent avec un résultat négatif. La présence rare et irrégulière du Sacch. apiculatus sur ces arbres montrait clairement qu'il n'y avait pas son habitat. Pour vérifier les assertions de M. Brefeld, j'ai aussi examiné les excréments de l'homme, de la vache et du cheval. Mais je n'en ai trouvé aucune trace et, par conséquent, il ne peut en tout cas être commun dans ces substrata. Dans mon mémoire sur les champignons stercoraires, il ne figure pas non plus sur la liste des formes que j'ai étudiées, ce qui est au contraire le cas pour des formes qui doivent être rapportées au Sacch. cerevisiæ[3]).

Si les observations qui précèdent et l'ordre d'idées qui s'y rattache étaient exacts, il fallait en général s'attendre à le rencontrer non seulement sur les fruits des arbres et des arbustes nommés plus haut, mais aussi dans la terre au-dessous, et à ne le trouver dans un autre terrain qu'en petite quantité et rarement ou pas du tout. C'est le troisième point à démontrer. La méthode à suivre se présente d'elle-

---

[1]) l. c. p. 38.
[2]) l. c. p. 36 et suiv.
[3]) Emil Chr. Hansen, Les champignons stercoraires du Danemark, Résumé d'un mémoire publié dans les „Videnskabl. Meddelelser“ de la Société d'histoire naturelle de Copenhague, 1876, p. 341.

même: on procède à différéntes époques à de nombreuses analyses de la terre dans les endroits où théoriquement il doit se trouver, comme aussi sous d'autres arbres et arbustes dans le voisinage et enfin loin des vergers, dans les champs et les bois.

Les échantillons de terre pris sous les pruniers, les cerisiers et les groseilliers épineux ont sans exception donné dans les flacons de riches végétations de Sacch. apiculatus. Mais c'a été très rarement le cas pour ceux qui avaient été pris sous les vignes et sous les tilleuls, les érables, les marronniers et les conifères situés dans le voisinage, et il en a été de même de la terre recueillie sous les chênes, les hêtres et les aubépines d'un parc voisin, le Søndermark. Quant à la terre provenant de champs et de bois situés à une assez grande distance des vergers et des promenades, je n'y ai, malgré des recherches souvent répétées, jamais trouvé trace de notre organisme.

Des recherches que nous venons d'exposer il résulte donc non seulement que le Sacch. apiculatus séjourne sur les fruits doux et juteux, mais que ceux-ci doivent en même temps être considérés comme son habitat proprement dit pendant l'été. Qu'ils soient aussi pour lui une nourriture, c'est ce que nous avons appris plus haut en constatant qu'il pousse des bourgeons sur ces fruits. Nous en avons enfin une preuve indirecte dans la circonstance que les cellules se multiplient et se disséminent toujours davantage à mesure que les fruits doux et juteux du jardin mûrissent et deviennent plus nombreux. Les analyses des organismes microscopiques de l'air faites au laboratoire depuis le 1er mai 1878 ont donné des résultats dans le même sens.

Il est facile d'observer comment des fruits sur lesquels il se trouve le Sacch. apiculatus est entraîné dans la terre. Cela se fait de deux manières: par la pluie et avec les fruits tombés. Mais si la terre est le lieu où il hiverne, y reste-t-il durant le long intervalle depuis l'automne jusqu'à ce que l'été suivant lui ait apporté de nouveaux milieux nutritifs? Cette question peut être résolue par deux voies différentes. En premier lieu, on prend, dans le cours de l'hiver et du printemps, de nombreux échantillons aux endroits où, d'après ce qui précède, on sait qu'il se trouve pendant l'été, et procède ensuite à des cultures dans les flacons et les chambres humides pour appendre s'il est présent ou non et, au cas qu'on l'y découvre, s'il est vivant. En second lieu, on porte soi-même, à l'automne, le petit organisme dans la terre, dans un endroit déterminè du jardin, pour vérifier s'il peut y hiverner et s'y maintenir en vie jusqu'à l'été suivant.

Dans l'automne de 1879, je fis enclore quelques morceaux de terre autour des groseilliers épineux, des pruniers et des fraisiers. Cette clôture consistait simplement en quelques pieux servant à indiquer qu'on ne devait pas remuer la terre dans ces endroits, qui du reste étaient exposés aux mêmes intempéries que les terrains contigus. Sous les cerisiers, je pus me dispenser de prendre cette précaution, comme la pelouse qui les entourait fut laissée complètement en repos. Remarquons une fois pour toutes que, pour les recherches dont il s'agit ici, il n'a été employé que de la terre à laquelle on n'avait pas touché depuis l'automne.

Des échantillons furent pris aux endroits ci-dessus mentionnés en janvier, février et mars 1880. Dans quelques cas, la terre était durcie par le froid, de sorte que j'étais obligé d'en détacher à grands coups de bêche les fragments dont j'avais besoin pour mes recherches; dans d'autres, elle était dégelée. Mais le résultat a toujours été le même, à savoir que le Sacch. apiculatus se trouvait dans la terre et était vivant. Un voyage m'ayant conduit le 30 mars dans le sudouest de la Sélande, je profitai de l'occasion pour répéter les mêmes essais dans un jardin situé loin de Carlsberg, entre Skjelskør et Nestved, et traitai dans quatre flacons des échantillons de terre pris sous des groseilliers épineux et des cerisiers. Le Sacch. apiculatus se montra dans trois d'entre eux avec une riche végétation, mais je ne le trouvai pas dans le quatrième. La dernière série de ces expériences a eu lieu en juin, et comme elle peut servir d'exemple pour les précédentes, j'en ai donné un exposé détaillé qu'on trouvera dans le texte danois, p. 300—302.

De ces recherches il faut conclure que le Sacch. apiculatus reste dans la terre pendant tout l'hiver et le printemps jusqu'au milieu de juin, et qu'il y conserve son énergie vitale. On l'a rencontré aussi bien dans les couches supérieures que dans celles situées à une profondeur un peu plus grande. Il est bon de remarquer que ces analyses ont été faites avant que les premiers fruits doux et juteux, c'est-à-dire les milieux nutritifs des nouvelles générations de l'année, eussent atteint leur maturité.

Le second mode de recherche que j'ai employé pour résoudre la question du lieu de l'hivernage est le suivant. Le 2 novembre 1879, 6 pots à fleurs remplis jusqu'à 1½ pouce du bord, 2 de terre légère, 2 de terre grasse et argileuse et 2 de sable, furent infectés avec de la levûre saine et vigoureuse de Sacch. apiculatus, séparée par décantation du moût qui avait servi de liquide nourricier, et après addition d'eau répandue sur la terre et le sable, après quoi j'achevai de les remplir respectivement de terre et de sable, que j'infectai de la même manière. Ces pots furent placés dans le jardin dans des caisses recouvertes d'un filet. L'année suivante, au commencement de mars, je procédai à des cultures dans les flacons avec des échantillons de terre et de sable pris dans deux d'entre eux, et constatai que le Sacch. apiculatus s'était conservé vivant dans les premiers, mais non dans les seconds. Une analyse semblable faite en avril donna le même résultat. Le 14 juin, époque où, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, les nouveaux milieux nutritifs de notre petit organisme n'étaient pas encore développés, j'examinai les autres pots et trouvai que le Sacch. apiculatus était vivant dans tous les échantillons de terre, mais pas dans un seul échantillon de sable.

Le 8 janvier 1880, cette expérience fut reprise avec un petit changement. On employa le même nombre de pots et les soumit au même traitement que dans le cas précédent, mais, au lieu de les mettre dans des caisses, on les enterra dans le jardin au niveau du sol. Quelques pots semblables également remplis de terre ou de sable, mais non infectés, furent enterrés à côté des premiers pour servir de comparaison. Ils restèrent tous découverts pendant l'hiver et le prin-

temps jusqu'au 5 juin, jour où l'expérience fut interrompue. Comme on devait s'y attendre, les derniers ne renfermaient pas trace de Sacch. apiculatus; mais les analyses des pots infectés donnèrent ce résultat que le sable comme la terre en contenait de nombreuses cellules types et vivantes. Ces cellules avaient ainsi passé l'hiver en plein air aussi bien dans la terre qu'en partie dans le sable, et, dans ces deux expériences, y étaient restées respectivement plus de 7 et de 5 mois. L'active fermentation et le riche bourgeonnement observés dans les cultures donnaient la complète certitude qu'elles étaient vivantes.

Il est donc prouvé que le Sacch. apiculatus passe l'hiver dans la terre. Que ce soit son lieu d'hivernage proprement dit, nous devons le conclure de la circonstance que, dans cette saison de l'année, on ne le trouve pas du tout ou que tout exceptionnellement dans d'autres endroits. C'est ce que nous avons constaté en employant la même méthode que précédemment.

Il faut donc le chercher dans tous les endroits où il est à supposer qu'il puisse se trouver: dans les poussières déposées sur les bâtiments, sur les arbres et dans le pavillon du jardin, en particulier sur les points qui ont été exposés au vent pendant l'automne, et qui depuis lors sont restés à peu près dans le même état; sur l'écorce, les branches et les ramilles des arbres et des arbustes à fruits; sur les fruits et les feuilles qui restent encore et enfin dans les excréments. Ces recherches ont été poursuivies en 1880 depuis le mois de janvier jusqu'à la mi-juin. Les fruits que j'ai examinés sont ceux du Pyrus, du Ligustrum, du Cratægus, du Berberis, du Symphoricarpus, de l'Ilex Aquifolium, du Taxus baccata et des raisins bruns ratatinés qui, dans l'été froid de l'année précédente, n'avaient pas atteint leur maturité. En fait d'excréments, j'ai opéré sur ceux de la vache, du cheval et de l'homme. De 71 analyses, non compris celles de l'air, 3 seulement ont donné des traces de Sacch. apiculatus, à savoir dans 2 flacons renfermant de l'écorce et des fragments de branches de cerisiers, et dans 1 qui contenait les mêmes parties prises sur les pruniers. Mais ce résultat est tout accidentel, car je n'ai rencontré notre organisme dans aucun des échantillons pris aux mêmes endroits et de la même manière soit précédemment soit plus tard. Le plus probable, c'est que le vent l'aura enlevé avec la poussière de la terre et porté sur les arbres ci-dessus mentionnés. Il demeure donc établi, comme le montrent les analyses, que, pendant l'hiver, on trouve ordinairement le Sacch. apiculatus dans la terre, sous les arbres et les arbustes dont les fruits lui servent en été de nourriture, et que c'est là son lieu d'hivernage proprement dit.

Mes recherches sur l'apparition des organismes microscopiques dans l'air concordent aussi avec ce résultat. C'est ainsi que le Sacch. apiculatus, en 1879 comme l'année précédente, a été observé la dernière fois au commencement de novembre et n'a reparu l'année suivante qu'au mois de mai, également avec une maigre végétation. Mais dans les premiers jours d'août, j'en obtins une très abondante, qui indiquait clairement qu'il était alors répandu en grande quantité dans l'air. Toutefois il ne faudrait pas croire que celui-ci est en hiver

dépourvu d'organismes microscopiques. Loin de là il en renferme même pendant les plus fortes gelées, et, sur les végétaux morts ou pourris il en vit toute une foule dont les conidies surtout peuvent être emportées par le vent, mais le Sacch. apiculatus ne s'y montre pas ou y est du moins très rare.

Les recherches qui précèdent nous apprennent donc que cet organisme se trouve habituellement sur les fruits mûrs doux et juteux, et que ceux-ci constituent sa nourriture normale. A mesure que le nombre des fruits augmente, l'air dans le jardin et aux alentours en renferme une quantité plus grande, le vent dispersant de tous côtés les nouvelles générations qui prennent naissance. L'assertion de M. Pasteur que les Saccharomyces ne se rencontrent que sur les raisins mûrs n'a donc pas une valeur absolue. Lorsque le Sacch. apiculatus est transporté par le vent sur des raisins ou d'autres fruits verts, il arrive dans un milieu où il ne peut se multiplier et où peut-être il ne tarde pas à périr. Voilà pourquoi on ne l'y trouve que tout exceptionnellement. Il en est de même de la poussière qui se dépose sur les branches et les fruits desséchés, par ex. du tilleul, de l'érable, etc. Comme il fallait s'y attendre, c'est seulement quelque temps après que les premiers fruits doux et juteux ont atteint leur maturité qu'on peut trouver une végétation un peu abondante de notre ferment apiculé. Aussi n'est-il pas rare, au commencement de la belle saison, que nos cultures, par ex. avec des framboises, des fraises et des cerises, ne donnent que des résultats négatifs, mais il est intéressant de voir combien le Sacch. apiculatus devient de plus en plus abondant dans des cultures séparées seulement par quelques jours d'intervalle, jusqu'à ce qu'on constate qu'il se trouve sur presque chaque fruit mûr doux et juteux. Avec la pluie et les fruits tombés, il est entraîné dans la terre. Il y passe l'hiver et recommence la même circulation l'été suivant. Mes recherches sur les organismes microscopiques de l'air montrent que, pendant les périodes sèches, il peut être emporté par le vent avec la poussière de la terre. Que la pluie puisse le faire rebondir sur des plantes basses, telles que les fraisiers, c'est ce que j'ai observé directement. Les insectes et autres petits animaux peuvent également jouer un rôle sous ce rapport.

Après avoir ainsi résolu cette première question, il s'en présente tout de suite une seconde, celle de savoir dans quel état, sous quelle forme le Sacch. apiculatus passe ce long espace de temps dans la terre. Les expériences commencées à ce sujet en 1879 n'ont pas réussi. Celles que j'ai entreprises cette année ont donné un résultat plus favorable, de sorte que je puis déjà communiquer que les cellules, après avoir été semées, il y a près de deux mois, dans de la terre ordinaire de jardin, ont maintenant, à la fin de décembre 1880, pendant que ce mémoire est sous presse, conservé non seulement leur énergie vitale, ce que nous pouvons savoir d'après ce qui précède, mais aussi leur forme habituelle. Le temps, durant cette période, a été très variable: gelée, neige, pluie, vent, calme, clair, air sec et humide. Pendant plusieurs jours de suite, la terre a été gelée à une petite profondeur et couverte de neige. Comme les cellules semées n'ont pas pris de nouvelles formes dans ce long laps de temps, il n'est pas

probable qu'elles l'eussent fait dans le reste de la période de l'hivernage. Un exposé détaillé de ces nouvelles expériences sera d'ailleurs publié dans une prochaine livraison de cette revue. Dans les préparations desséchées de ce ferment, les cellules conservent encore aussi leur forme habituelle au bout de plusieurs mois.

Dans l'ouvrage mentionné en dernier lieu, p. 74, M. Pasteur établit une comparaison entre le mode d'apparition des formes du Saccharomyces et du Mucor; ces deux genres sont, à cet égard, mis en opposition l'un avec l'autre, car il est dit du dernier qu'on le trouve toute l'année dans la terre, ce qui ne doit pas être le cas pour le premier. En ce qui concerne la communication relative aux formes du Mucor, je puis en confirmer l'exactitude, mais dois en même temps faire observer qu'on peut en dire autant d'une foule d'autres champignons, et qu'on les rencontre en hiver non seulement régulièrement dans la terre, mais aussi au-dessus, dans les poussières de l'air, sur les fruits, les branches, etc. Mais l'assertion de M. Pasteur touchant l'apparition des formes du Saccharomyces est en désaccord avec mes recherches sur le Sacch. apiculatus. Quant à la circulation des autres espèces de Saccharomyces dans la nature, on ne sait encore rien de certain. Les idées de M. Brefeld n'ont trouvé aucune confirmation dans ce travail.

J'ajouterai en terminant qu'il a été fait plus de mille analyses à l'occasion de ces recherches. Mais j'ai omis à dessein d'en donner un exposé détaillé, parce qu'un pareil exposé aurait entraîné des répétitions fatigantes et surchargé sans utilité mon mémoire. Ce grand appareil n'a toutefois pas été mis en oeuvre uniquement pour éclaircir la question qui vient de nous occuper, mais a eu en même temps pour but de faire connaître le mode d'apparition dans la nature de divers autres organismes microscopiques, et une grande partie de ces études ne sont qu'une continuation des recherches que j'ai faites en 1878 sur les organismes microscopiques de l'air, et qui ont été publiées dans la 2me livraison de cette revue.

Comme je l'ai déjà dit, le motif qui m'a fait choisir le Sacch. apiculatus pour mes recherches, c'est avant tout que cette espèce bien caractérisée, avec sa forme toujours facile à reconnaître, permettait pour la première fois de poursuivre jusqu'au bout la question du milieu nutritif et du lieu d'hivernage d'un Saccharomyces, et de sa circulation dans la nature. Mais cette espèce se prête également très bien à des recherches sur l'évolution et sur la physiologie expérimentale.

De même que les autres espèces de Saccharomyces, il se multiplie par bourgeonnement dans un liquide nourricier fermentescible. M. Reess dit à ce sujet[1]) que ce sont seulement les pôles de la cel-

[1]) l. c. p. 27.

lule mère qui bourgeonnent, et que le bourgeon, avant de se détacher complètement, est rejeté sur le côté de manière à former un angle droit avec la cellule mère. Suivant lui, les cellules qui viennent de naître sont elliptiques et ne prennent la forme de citron qu'après être devenues libres; mais il n'explique pas comment ce changement de forme se produit. On n'observe jamais des colonies composées d'un grand nombre de cellules. M. Engel[1]) qui a étudié spécialement cette espèce de ferment, n'a pas obtenu d'autres résultats que M. Reess. J'ai essayé, dans ce qui suit, d'éclaircir ces questions embrouillées.

On a représenté, dans la Fig. 2, 6 séries de l'évolution du Sacch. apiculatus, les cellules marquées de la même lettre appartenant à la même série. Elles proviennent toutes de cultures faites dans les chambres de Ranvier, avec du moût houblonné comme liquide nourricier et à la température du laboratoire.

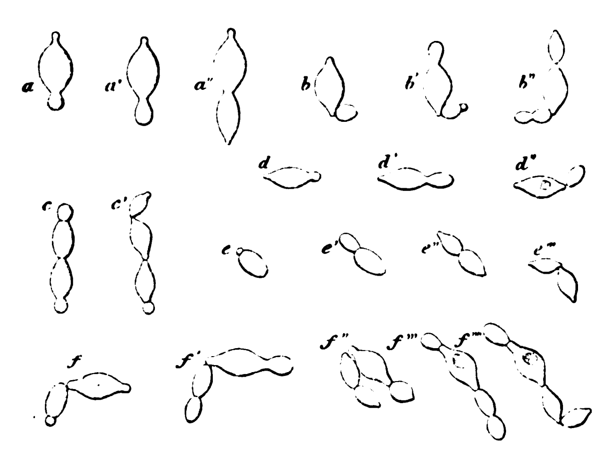


Fig. 2.

Cellules bourgeonnantes de Sacch. apiculatus: *a*, cellule qui, de son extrémité inférieure, a commencé, à 10 h. $^1/_2$, de pousser un bourgeon; *a'* et *a''*, même cellule après qu'elle a continué de se développer pendant $1^1/_2$ et $3^1/_4$ heures; *b*—*b''*, série analogue, mais le bourgeon s'est développé ici de l'extrémité supérieure de la cellule mère, tandis que de l'extrémité opposée s'était détaché, au début de l'observation, *b*, un bourgeon formé antérieurement, et dont le développement ultérieur, 2 et 3 heures après, est représenté en *b'* et *b''*, *b''* montrant les cellules dans une position autre que la précédente; *c* est une série de cellules et *c'* la même $^3/_4$ d'heure plus tard, le bourgeon inférieur avait, comme les cellules ci-dessus, pris la forme type de l'espèce, mais dans la figure on le voit de son extrémité de telle manière qu'il faut s'imaginer que son grand axe fait un angle droit avec le plan du papier; *d* à 2 h. $^1/_2$, *d'* à 3 h. $^1/_4$, *d''* à 3 h. $^3/_4$; *e* cellule ovale avec un bourgeon à 10 h. $^3/_4$, *e'* à 12 h.,

[1]) l. c. p. 53 et suiv.

e'' à 12 h. $^3/_4$, e''' à 1 h.; f à 2 h. $^1/_2$, f' à 3 h. $^1/_4$, f'' à 4 h., toutes les cellules ont maintenant pris la forme de citron, f''' à 5 h., développement ultérieur des deux cellules à droite en f''; f'''' à 5 h. $^1/_2$ (Grossissement lin. 950 fois env.).

On peut déjà voir dans la Fig. 1, p. 160, que les bourgeons détachés ne sont pas toujours ovales, mais ont quelquefois la forme type de l'espèce, celle d'un citron, et la Fig. 2 le montre encore plus clairement. Les séries $a—a''$, $b—b''$, $c—c'$, $e—e'''$ et $f—f''''$ en offrent des exemples. Le point de départ, f, dans la dernière série, nous apprend en même temps qu'une cellule en forme de citron peut en produire une ovale; cela se voit aussi en $d—d''$. Tous les bourgeons observés se sont développés des extrémités des cellules mères. Dans les séries $e—e'''$ et $f—f''''$, nous faisons cette intéressante observation que les cellules ovales poussent d'abord un bourgeon avant de prendre elles-mêmes la forme type de citron. Il ne sera pas inutile de nous arrêter un moment sur la série $e—e'''$. Au début de la culture, nous avons en e une cellule ovale ou presque oviforme avec un petit bourgeon: en e', non seulement ce dernier s'est accru, mais la cellule mère a aussi commencé de s'effiler à l'extrémité opposée; en e'', nous voyons que cette extrémité est devenue encore plus pointue et, en même temps, que le bourgeon est en train de prendre la forme type de citron; la transformation est complètement terminée en e''' aussi bien en ce qui concerne le bourgeon que la cellule mère. A cet égard, la cellule fille, comme le montre e'', a même devancé sa cellule mère. Quelquefois, la cellule mère ovale doit pousser deux ou plusieurs bourgeons (Fig. 3, $j—j'$) avant de prendre la forme de citron, et, de même que lorsqu'elle a la forme type de l'espèce, elle peut donner naissance à des cellules filles ovales et en forme de citron.

Tant que les conditions alimentaires sont favorables et que le bourgeonnement marche activement, il se produit fréquemment des chaînes de 4 cellules qui restent entières pendant un peu de temps. Il n'est pas rare alors que la forme type se perde rapidement, souvent aussitôt après s'être produite. On en trouve un exemple dans la Fig. 3, $k—k'''$, où k est une cellule ovale avec une petit bourgeon; en k', le bourgeon a un peu grossi et la cellule mère est devenue pointue, caractère qui constitue une des premières phases qu'elle parcourt pour prendre la forme type de l'espèce; en k'', la cellule mère et la cellule fille ont pris cette forme, mais pendant le nouveau bourgeonnement qui survient aussitôt après, et qui commence aux extrémités pointues des deux cellules (k''') avant qu'elles se soient séparées, la forme ovale reparaît de nouveau. Celle-ci, comme le montre la Fig. 2 $c—c'$, peut à son tour être remplacée par la forme type, et ces transformations peuvent se répéter indéfiniment pour les nouveaux individus qui prennent successivement naissance, mais non sans être soumises à une règle. Nous allons dans ce qui suit rechercher quelles sont les causes de ce phénomène.

Chez les espèces qui sont rangées dans le genre Saccharomyces, il est assez ordinaire de rencontrer des cellules en forme de boudin

et souvent d'une forme baroque. C'est aussi quelquefois le cas pour le Sacch. apiculatus; la Fig. 3, *l—l'''''* et *m—m''''*, représente deux séries de pareilles cellules. La première (*l—l'''''*) nous montre une cellule mère en forme de boudin, qui, de ses deux extrémités, d'abord de la supérieure et puis de l'inférieure, émet des cellules filles ayant tout à fait la forme type. La série *m—m''''*, où la forme de la cellule mère est plutôt celle d'un croissant, présente un cas analogue. C'est seulement en étudiant avec soin le bourgeonnement de ces cellules qu'on peut s'assurer qu'elles appartiennent réellement à notre espèce. Autant que j'en puis juger d'après mes observations, elles ne peuvent pas, comme les cellules ovales, prendre la forme type de citron au moyen d'un bourgeonnement, et toute leur figure semble aussi devoir interdire une pareille transformation. Les petites cellules représentées dans les séries *g—g''* et *h—h''* peuvent bien aussi, à cause de leur petitesse, être rangées parmi les cellules anormales. On voit dans ces deux séries que la petite cellule presque sphérique qui était le point de départ prend peu à peu par le bourgeonnement la forme type de l'espèce. En *g—g''* se détache une cellule en forme de boudin. La Fig. 3, *i*, montre ce rare phénomène, également observé par M. Reess, que, dans chacune des deux cellules types qui y sont représentées, il s'est développé un globule fortement réfringent. Les séries de la Fig. 3 proviennent, comme les précédentes, de cultures faites dans la chambre de Ranvier à la température du laboratoire; mais, tout en se servant pour les autres séries de moût houblonné comme liquide nourricier, on a pris du jus de pommes pour *g—g''* et du jus de prunes pour *h—h''*.

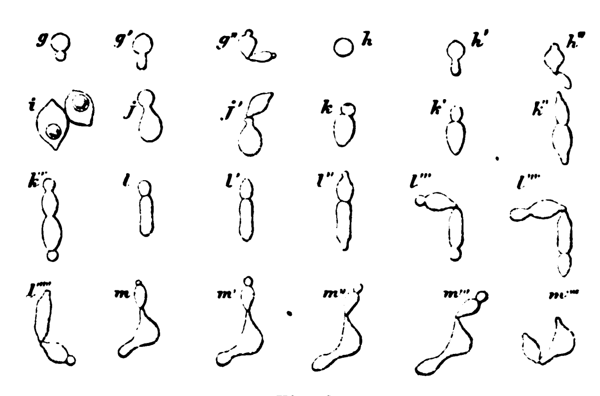


Fig. 3.

Cellules de Sacch. apiculatus, la plupart bourgeonnantes: *g* à 3 h. 3/4, *g'* à 5 h. 1/4, *g''* à 6 h. 1/2; *h* à 10 h. 1/4, *h'* a 1 h. 3/4, *h''* à 2 h. 1/3; *i* deux cellules types, chacune avec son globule fortement réfringent; *j* à 10 h. 1/2, *j'* à 1 h. 1/4; *k* à 10 h. 1/2, *k'* à 12 h. 1/2, *k''* à 1 h. 1/2, *k'''* à 2 h. 1/4; *l* à 7 h., *l'* à 8 h., *l''* à 8 h. et 5 minutes, *l'''* à 8 h. 1/4, *l''''* à 9 h. 1/2, *l'''''* à 10 h.; *m* à 6 h. 1/2, *m'* à 6 h. 3/4, *m''* à 7 h., *m'''* à 7 h. 1/4, *m''''* à 7 h. 3/4 (grossissement lin. 950 fois env.).

Si nous laissons de côté les bourgeons anormaux, qui n'apparaissent aussi qu'exceptionnellement, le résultat principal des recherches qui précèdent sera donc: qu'il ne se détache pas seulement une espèce de bourgeons, comme l'enseignent M. Reess et M. Engel, mais régulièrement deux, et que l'évolution des bourgeons ovales est réglée par cette loi, que, pour prendre la forme type de l'espèce, ils doivent produire un ou plusieurs bourgeonnements.

Pour abréger j'ai désigné comme ovales tous les bourgeons ronds et plus ou moins elliptiques. Au point où j'en suis arrivé, il se pose naturellement une autre question, à savoir quand et dans quelles conditions se développe chacune de ces formes de bourgeons. Il résulte de ce qui précède qu'on ne saurait en chercher la cause dans la forme de la cellule mère. On est donc conduit à examiner si elle se trouve dans les conditions alimentaires. Déjà en comparant les premières cellules qui se sont formées dans les cultures des chambres humides, après que le bourgeonnement a commencé, avec celles qui s'y trouvent après un intervalle de 24 heures, par exemple, on reçoit l'impression que le nombre des cellules ovales s'est accru en plus forte proportion que celui des cellules en forme de citron, et si l'on porte spécialement son attention sur ce fait, on constatera que les bourgeons les premiers développés ont presque sans exception la forme type Au début de la culture, lorsque les conditions alimentaires sont particulièrement favorables, il se produit donc plus de cellules en forme de citron que de cellules ovales, tandis que la proportion inverse survient plus tard quand une partie des aliments ont été consommés, et qu'il s'est formé à la place de l'acide carbonique, de l'alcool, etc. Ce résultat, qui repose seulement sur une appréciation, a aussi été confirmé par des recherches exactes faites à l'aide de la méthode de numération avec l'hématomètre de Hayem-Nachet (voir le texte danois, p. 310—311).

Dans les descriptions du Sacch. apiculatus, les auteurs relèvent ordinairement que la cellule renferme en son milieu une grande vacuole; ce n'est qas cependant un caractère constant, mais une formation qui apparaît dans un état bien déterminé dans la vie de la cellule, à savoir quand elle se trouve placée dans des conditions alimentaires plus ou moins défavorables. Si, dans une chambre humide avec du moût houblonné comme liquide nourricier, on introduit quelques cellules où la formation des vacuoles est fortement caractérisée, il ne se passe en généra. pas plus d'une heure avant qu'elles soient toutes remplies d'un protoplasme homogène d'un gris mat, et que les vacuoles aient disparul En même temps le développement des cellules en forme de citron est en pleine activité. Un peu plus tard les vacuoles apparaissent de nouveau, surtout après que les cellules ovales ont eu pendant quelque temps la prépondérance, et si l'on abandonne la préparation à elle-même pendant quelques jours, elles finissent par devenir très prédominantes. J'ai observé quelque chose d'analogue dans les cultures en masse faites dans des ballons, de même que dans les chambres humides, avec du jus de prunes, de pommes ou de raisins comme liquide nourricier. La formation des vacuoles était surtout très développée

dans le jus de prunes et de pommes, et dans ce dernier, elle l'était même à ce point que plusieurs cellules paraissaient être complètement vides et se composer seulement d'une enveloppe sans contenu. J'ai constaté également que, dans ces trois derniers liquides, la multiplication était plus lente et plus faible. Les cellules engourdies par le dessèchement à l'air perdent entièrement leurs vacuoles.

Le mémoire précité de M. Reess contient des dessins de plusieurs formes anormales, où nous voyons entre autres que le bourgeonnement peut avoir lieu exceptionnellement en d'autres points que les extrémités pointues de la cellule mère[1]). Il y est dit des cellules en forme de boudin qu'elles se produisent souvent à la fin de la fermentation, et dans des cultures sur des tranches de pommes de terre et de carottes. Quelquefois, mais rarement, j'ai aussi réussi à provoquer ces formations soit par ce procédé, soit en semant des cellules dans de l'eau.

Les essais de M. Reess pour provoquer, par des cultures de cellules sur divers substrata, soit une formation de mycélium, soit un développement d'ascospores ou d'autres organes de fructification, ont abouti à un résultat négatif. Je n'ai, sous ce rapport, pas été plus heureux. Mais M. Engel croit avoir découvert chez cette espèce une nouvelle forme de fructification qui lui donnerait une certaine ressemblance avec le genre Protomyces[2]). Il dit l'avoir obtenue par des cultures sur des blocs de plâtre humides, mais après avoir poursuivi ses expériences pendant 6 mois, il a dû les interrompre avant qu'elles fussent entièrement terminées. Néanmoins, à cause de la fructification de Protomyces qu'il suppose devoir exister chez notre organisme, il le rapporte à un genre nouveau qu'il appelle Carpozyma. Son assertion n'a pas été confirmée plus tard, et, comme en répétant et en prolongeant ses expériences, je ne suis pas arrivé au même résultat que lui, j'ai conservé l'ancien nom avec M. Pasteur et M. Reess.

Pour faire des expériences physiologiques avec les organismes microscopiques, il faut avant tout avoir une culture pure, avec une végétation pas trop clair-semée de vigoureuses cellules. On peut obtenir une pareille culture de Sacch. apiculatus en opérant comme il suit. Dans un grand nombre de flacons avec du moût stérilisé comme liquide nourricier, on introduit des fruits sur lesquels il y a lieu de supposer que le Sacch. apiculatus se trouve, mais seulement un fruit dans chaque flacon, et on s'assure en outre que la surface n'en est pas couverte de moisissures ni trop impure, ce que l'oeil, avec un peu d'exercice, découvre rapidement. Au bout de quelques jours, un ou plusieurs de ces flacons renfermeront en général une végétation abondante et assez pure de notre organisme. Peu importe que quelques bactéries y soient mêlées, car d'ordinaire on s'en débarrasse assez fa-

1) l. c. Pl. III, Fig. 10.
2) l. c. p. 52.

cilement par des cultures dans des liquides acides. Mais cela devient plus difficile lorsqu'avec le Sacch. apiculatus apparaissent d'autres espèces de Saccharomyces ou des moisissures. En pareil cas, le mieux sera d'arrêter l'expérience et de recommencer. Mais si la culture ainsi obtenue peut servir, on en infecte du moût stérilisé, additionné d'un peu d'acide tartrique, dans un ballon à deux cols semblable à ceux qu'emploie M. Pasteur. Au bout de quelques jours, la fermentation est en pleine activité, et l'on sépare alors par décantation le liquide nourricier du ferment, qui reste au fond du ballon, après quoi on ajoute du liquide frais de la même composition, en prenant les précautions nécessaires pour qu'il ne s'y introduise pas des organismes du dehors. En répétant plusieurs fois cette opération, on arrive à la fin à obtenir une culture parfaitement pure. Il peut aussi être bon d'ajouter tout de suite de l'acide tartrique au moût des flacons.

Les premières expériences que j'ai faites avec le Sacch. apiculatus m'ont montré qu'il produit la fermentation alcoolique dans le moût de bière, et qu'il se comporte comme une levûre basse. A cet égard, je puis donc confirmer les observations antérieures de MM. Reess, Engel et Pasteur. Mais son pouvoir fermentatif est assez faible, car il n'a jamais produit plus de 1 volume °/o d'alcool, tandis que le Sacch. cerevisiæ, dans les mêmes circonstances, en a donné 6. Ici et dans ce qui suit, il est toujours question de la forme de levûre basse. J'ai employé dans ces expériences du moût houblonné clair stérilisé (13—14 °/o Ball.) dans des ballons Pasteur et des flacons, ces derniers coiffés de papier à filtrer, et j'ai opéré à des températures variant de 5 à 32° C. En me servant d'un moût moins riche en extrait (9 °/o Ball. env.), j'ai obtenu en général le même résultat. La bière du Sacch. apiculatus, dans des expériences faites à des températures inférieures à 25° C., avait un goût et une odeur agréables; celle-ci rappelait l'odeur des fruits. La tension de l'acide carbonique était faible. Par les déterminations d'acides mentionnées p. 314 du texte danois, on voit que dans les expériences identiques qui ont été faites avec le Sacch. apiculatus et le Sacch. cerevisiæ à la fin de la fermentation principale, il s'est en général formé des quantités égales d'acides (l'acide carbonique non compris), tandis qu'en même temps la bière du dernier de ces ferments renfermait toujours une quantité bien plus considérable d'alcool que la bière du premier.

En continuant mes expériences avec le Sacch. apiculatus, j'ai fait l'intéressante observation que, contrairement à ce que nous savons sur les formes du Saccharomyces, il ne peut pas produire l'invertine et n'est par suite non plus en état de faire fermenter le sucre de canne[1]).

Avant de décrire mes expériences, je dois dire quelques mots des

[1]) M. Gayon a récemment constaté quelque chose de semblable chez certaines moisissures: Faits pour servir à l'histoire physiologique des moisissures (Mém. de la soc. des sciences phys. et nat. de Bordeaux, 1878, p. 449). Sur un procédé nouveau d'extraction du sucre des mélasses (Annales agronomiques, 1880).

réactions de l'alcool, des déterminations faites avec le réfractomètre de M. Abbe et de la dissolution de sucre de canne que j'ai employée. Une des réactions les plus sensibles de l'alcool est incontestablement celle de M. Lieben. C'est certainement aussi celle qu'emploient le plus souvent les chimistes et les physiologistes, lorsqu'il s'agit de constater la présence de ce corps dans les liquides distillés très étendus. En effet si le précipité cristallin d'iodoforme n'apparaît pas, c'est dans l'état actuel de nos connaissances un signe certain qu'il n'y pas d'alcool. Mais, de la formation du précipité, nous ne pouvons réciproquement conclure qu'il est présent dans le liquide, car cette réaction est commune à un grand nombre de combinaisons différentes, y compris aussi la saccharose, la glycose et la lactose. Dans la distillation de liquides qui renferment ces substances conjointement avec des cellules de levûre, ces dernières et, avec elles, de légères particules de sucre peuvent, même sur un feu doux, être entrainées avec les vapeurs dans le récipient où se rassemble le produit distillé qui doit être essayé. Par conséquent, si l'ébullition n'a pas été surveillée avec le plus grand soin, ou pour peu seulement qu'on n'ait pas été heureux, on peut facilement voir se produire la réaction ci-dessus mentionnée, par ex. dans un liquide distillé provenant d'une dissolution de sucre de canne pur, qui, en réalité, ne renferme pas la moindre trace d'alcool. Pour ce motif, j'ai employé comme contrôle le caractère de larmes ou de stries, indiqué par M. Pasteur[1]), méthode qui, pour le but que nous avons en vue, a ce grand avantage qu'une dissolution de sucre pur ne donne pas la réaction de l'alcool. Comme moyen subsidiaire, j'ai en outre employé le réfractomètre de M. Abbe, avec lequel j'ai déterminé le pouvoir réfringent des dissolutions de sucre, après y avoir ajouté du ferment et du papier d'invertine, lorsque je me servais de ce dernier. Dans les cas où survient la fermentation alcoolique, l'indice de réfraction du liquide devient plus petit qu'il ne l'était au commencement de l'expérience, mais si elle ne se produit pas, on trouve ou le même indice ou, s'il y a eu une évaporation sensible, un indice plus grand. Comme point de départ, on dispose l'échelle de l'instrument de manière qu'elle marque dans l'eau distillée un indice de réfraction égal à 1,333. On peut ainsi, dans ses traits principaux, suivre la marche d'une fermentation et, si l'on a dressé à l'avance un tableau, faire des déterminations passablement exactes. Cette recherche n'exigeant qu'une goutte de liquide, le réfractomètre est fort utile lorsqu'on opère sur de petites portions, ou lorsque, sans vouloir troubler ni interrompre une fermentation, par ex. dans un ballon Pasteur à deux cols, on désire cependant en examiner les progrès[2]).

---

[1]) l. c. p. 78 et p. 90.

[2]) Dans plusieurs cas, le réfractomètre peut contribuer à constater si une bière est falsifiée ou non, et si elle est bien la marchandise pour laquelle on la vend. Les recherches faites au laboratoire ont en effet montrè que les différentes espèces de bières basses n'ont pas le même indice de réfraction, et que cet indice se maintient, au moins pendant plusieurs semaines, avec de petites oscillations qui ne dépassent

Les dissolutions de sucre de canne qui ont été employées dans les expériences suivantes étaient claires et stérilisées, et renfermaient 10 % de saccharose. On en a introduit 200 cent. cub. dans tous les ballons Pasteur à deux cols dont on s'est servi, lesquels avaient chacun une contenance de ½ litre. Avant de commencer l'expérience, j'ai essayé le contenu de tous les ballons avec la liqueur de Fehling pour m'assurer qu'ils ne renfermaient pas de la saccharose intervertie. Cette manipulation, de même que toutes les autres, a été exécutée avec les précautions indiquées par M. Pasteur pour se mettre à l'abri de l'infection d'organismes étrangers. Je communique ci-après la série d'expériences la plus instructive parmi celles que j'ai entreprises pour éclaircir la question effleurée plus haut.

Le 27 février 1880, on a introduit dans 4 ballons, A, B, C, D, renfermant chacun une dissolution de sucre de canne, du ferment provenant d'une culture pure, composé de cellules saines et normales de Sacch. apiculatus, et lavé au préalable avec de l'eau distillée dans un cinquième ballon pour enlever l'alcool et le sucre directement fermentescible qui restaient de la culture précédente. Chacun des 4 ballons ayant reçu une portion à peu près égale de ferment, on a mis dans A quelques bandes de papier d'invertine et déterminé l'indice de réfraction, tant pour ce ballon que pour les trois autres, B, C, D, indice qui, dans tous les quatre, a été trouvé égal à 1,3489. On a opéré à la température ordinaire d'un appartement.

A.

3 mars. Réaction acide, forte réduction de la liqueur de Fehling, indice de réfraction = 1,3485, caractère de larmes et précipité d'iodoforme, bien apparents. Cellules de levûre d'un aspect maladif, riches en vacuoles, fortement réfringentes; pas d'organismes étrangers.

B.

3 mars. Liquide neutre, aucune réduction, indice de réfraction = 1,3489, pas de caractère de larmes ou de stries ni de précipité d'iodoforme. On a ensuite introduit dans ce ballon quelques bandes de papier d'invertine.

8 mars. Bulles d'air, signes extérieurs de fermentation, réaction

---

pas certaines limites. Comme exemples, nous donnerons ici les indices de réfraction des bières basses suivantes de Copenhague:

Bière de garde du vieux Carlsberg.	(février—avril 1880	1,343—1,344.
Bière de garde du nouveau Carlsberg.	(do. do.)	do. do.
Bière de garde de M. Marstrand.	(17 mars—21 avril 1880).	1,344—1,345.
Bière de garde de Svanholm.	(do. do.).	1,344—1,3447.
Bière de garde d'Aldersro.	(10 mars—21 avril 1880). . . .	1,346—1,347.

acide, forte réduction, indice de réfraction = 1,346, caractère de larmes et précipité d'iodoforme, bien apparents. Levûre comme en A.

C.

8 mars. Liquide neutre, aucune réduction, indice de réfraction = 1,349, pas de caractère de larmes ou de stries ni de précipité d'iodoforme. Quelques bandes de papier d'invertine ont ensuite été introduites dans ce ballon.

12 mars. Bulles d'air, signes extérieurs de fermentation, réaction acide, forte réduction, indice de réfraction = 1,3475, caractère de larmes et précipité d'iodoforme, bien apparents. Levûre comme en A.

Pour m'assurer si la levûre du ballon C était pure et surtout s'il ne s'y était pas glissé des organismes étrangers avec le papier d'invertine, j'ai fait l'essai suivant. Le liquide et le papier d'invertine ayant d'abord été enlevés, le précipité de levûre a été versé dans un autre ballon contenant de l'eau distillée, où on l'a bien lavé et puis laissé déposer, après quoi on a décanté l'eau et partagé la levûre, alors débarrassée de toute trace de sucre interverti et d'alcool, dans deux ballons renfermant l'un du moût stérilisé et l'autre une dissolution de sucre de canne. L'indice de réfraction du moût était 1,353 et celui de la dissolution de sucre, 1,348. Le 16 mars, des flocons d'écume à la surface du moût indiquaient qu'il était en fermentation. Le 20 mars, l'indice de réfraction était descendu à 1,351 et le liquide donnait la réaction de l'alcool. La levûre se composait de cellules saines et normales sans mélange d'organismes étrangers. Le 27 mars, aucun changement ne s'était encore produit dans la dissolution de sucre; elle était neutre, ne réduisait pas la liqueur de Fehling et n'accusait pas trace de fermentation alcoolique. La levûre se comportait comme en A. Il s'ensuit que la levûre en C était non seulement vivante mais aussi pure. L'exposé de cette série d'expériences pourrait, à vrai dire, bien se terminer ici, comme le reste n'est en majeure partie qu'une répétition. Pour le compléter, je communiquerai cependant aussi la dernière partie.

D.

12 mars. Liquide neutre, aucune réduction, indice de réfraction = 1,3491. pas de caractère de larmes ou de stries, mais un léger précipité d'iodoforme composé de cristaux pour la plupart irréguliers. On a ensuite introduit dans le flacon quelques bandes de papier d'invertine.

18 mars. Bulles d'air, signes extérieurs de fermentation.

27 mars. Réaction acide, forte réduction, indice de réfraction = 1,3481, caractère de larmes et précipité d'iodoforme bien apparents. Ce dernier ne renfermait presque exclusivement que des cristaux types réguliers. Les cellules de levûre avaient un aspect maladif, contenaient de grandes vacuoles, et quelques-unes d'entre elles étaient monstrueuses. On n'a pas observé d'organismes étrangers.

Que les cellules de levûre employées dans cette série d'expériences fussent pleines de vie et aptes à produire la fermentation, c'est ce qu'on a constaté dans A et également plus tard, de même que les

essais faits avec C ont surtout montré qu'elles n'étaient pas mêlées à des organismes étrangers. Comme résultat principal, nous apprenons que le Sacch. apiculatus ne peut ni intervertir ni faire fermenter une dissolution de sucre de canne à 10 %, mais qu'il produit la fermentation alcoolique dès que la saccharose a, par une autre voie, par exemple par du papier d'invertine, été transformée en sucre interverti. Comme on devait s'y attendre, les dissolutions de sucre employées étaient neutres, même après avoir été interverties par le papier d'invertine, et elles ne donnaient une réaction acide que lorsque la fermentation alcoolique s'était déclarée. Le liquide distillé avait alors une odeur de fruit, aromatique et un peu aigrelette, qu'on retrouvait aussi en partie dans la bière.

En variant les expériences, par exemple en opérant sur des dissolutions de saccharose dont le titre est supérieur ou inférieur à 10%, on obtient le même résultat. Une action de plus longue durée n'exerce non plus aucune influence sous ce rapport. C'est ainsi que des dissolutions abandonnées à elles-mêmes pendant deux mois n'ont pas accusé le moindre changement. On pouvait toutefois supposer que le Sacch. apiculatus était plus exigeant et plus délicat que d'autres ferments alcooliques, et que ses cellules, par suite des conditions défavorables que leur offraient les dissolutions de saccharose, tombaient dans un état d'affaiblissement qui les rendait incapables de produire l'invertine. Cette possibilité s'étant présentée à mon esprit, j'ai exécuté quelques séries d'expériences, en employant au lieu de dissolutions pures de saccharose, des dissolutions additionnées d'eau de levûre qu'on avait fait bouillir au préalable. Mais ce mélange est resté sans influence, et c'est seulement après qu'on y a ajouté du papier d'invertine qu'il a réduit la liqueur de Fehling et que la fermentation alcoolique s'est produite. Aussi n'a-t-on pas non plus trouvé trace d'invertine dans un extrait aqueux de Sacch. apiculatus. Ces recherches sont une nouvelle preuve que la saccharose n'est pas directement fermentescible.

La première difficulté à surmonter dans les recherches de ce genre est d'obtenir une culture pure, mais il s'en présente ensuite une seconde, à savoir celle de la maintenir dans cet état de pureté pendant toute la durée des expériences. Le reste et plus facile. Le ballon à deux cols de M. Pasteur est à cet égard une ressource très précieuse. Bien que le Sacch. apiculatus, comme il a été dit plus haut, n'appartienne certainement pas aux formes dont le traitement offre des difficultés spéciales, j'en ai eu cependant plusieurs à combattre et n'ai pas toujours réussi à empêcher des organismes étrangers de se glisser dans mes cultures. L'expérimentateur opère en effet dans une atmosphère renfermant souvent des bactéries, des moisissures et des levûres qui peuvent intervertir la saccharose, et parmi lesquelles figure entre autres le Penicillium glaucum, qui est si répandu et si incommode. Relativement aux bactéries, j'ai constaté qu'il y en a quelques espèces qui jouissent de cette propriété, tandis que d'autres en sont dépourvues. On est donc très exposé à se faire illusion en ce qui concerne l'intrusion des organismes étrangers. Telle a peut-être été la cause de l'erreur de M. Reess, lorsqu'il avance que

le Sacch. apiculatus, au point de vue physiologique, se comporte essentiellement comme le Sacch. cerevisiæ et le Sacch. ellipsoideus[1]).

Le voile d'écume que forme le Sacch. apiculatus pendant la fermentation est différent de celui du Sacch. cerevisiæ. En effet il est non seulement bien moins développé, mais se compose aussi de bulles plus petites, même si les liquides contenaient au commencement beaucoup plus de cellules de Sacch. apiculatus que de Sacch. cerevisiæ, et si les conditions extérieures, liquide nourricier, température, etc. étaient les mêmes. Dans les premières phases de la fermentation, il ne se manifeste cependant aucune différence sensible, car que le levain contienne l'une ou l'autre des deux espèces, les taches d'écume qui apparaissent tout d'abord se composent de petites bulles.

Les recherches qui précèdent nous ont appris que le Sacch. apiculatus hiverne dans la terre. Il y reste pendant une période de 7 ou de plus mois exposé à de très grandes variations thermométriques et hygrométriques, et par conséquent doit à un haut degré avoir la vie dure. Cela résulte aussi d'une autre observation que j'ai eu l'occasion de faire. Le 25 septembre 1879, je déposai dans mon cabinet de travail, en les recouvrant chacun d'une cloche de verre, deux petits verres, A et B, qui renfermaient de la terre qu'on avait prise sous les pruniers du jardin, et où le Sacch. apiculatus se trouvait en assez grande quantité. Peu de temps après, ces échantillons de terre étaient desséchés. Le 7 janvier de l'année suivante, j'entrepris avec eux des cultures et trouvai que le ferment était vivant dans tous les deux. Le reste de la terre fut laissé en repos jusqu'au 21 mai, et je le répartis alors dans quelques flacons contenant du moût stérilisé. Des deux échantillons, A et B, il se développa une riche végétation de Sacch. apiculatus, et je constatai sous le microscope qu'un grand nombre de cellules étaient en train de bourgeonner. Le ferment apiculé s'est donc maintenu en vie dans de la terre desséchée, à la température variable de la pièce, depuis septembre jusqu'en mai, c'est-à-dire pendant 8 mois. Cette faculté fait supposer qu'il pourrait fournir un levain facile à conserver et se prêtant aux transports lointains. Mais son faible pouvoir fermentatif empêche qu'on ne s'en serve pour tous les usages auxquels on emploie le Sacch. cerevisiæ. Quant à la question de savoir s'il y a aussi d'autres levûres qui hivernent dans la terre, elle n'est pas encore résolue; les recherches que j'ai entreprises pour l'éclaircir ne pourront être terminées que dans l'été de 1881. Mais il ne manque pas d'exemples prouvant que le Sacch. cerevisiæ est aussi très résistant; je veux parler des expériences qui ont été faites par plusieurs physiologistes avec des cellules de cette espèce desséchées à l'air.

Nous venons de voir comment se comporte le Sacch. apiculatus lorsqu'il est seul présent dans un liquide fermentescible; nous allons maintenant le considérer lorsqu'il a à soutenir la concurrence d'un rival plus fort que lui:

1re série d'expériences.

Après avoir versé dans 3 ballons Pasteur à deux cols, A, B, C,

[1]) l. c. p. 26.

200 c. c. de moût houblonné clair stérilisé (extrait, 15 % Ball. env.), on a ajouté dans A et B, d'une part, et dans B et C, d'autre part, des volumes égaux du même moût, où l'on avait mêlé respectivement de la levûre basse de Sacch. cerevisiæ et de la levûre de Sacch. apiculatus, en ayant soin de répartir également les cellules dans ces mélanges, de manière que chacun des volumes avec la même levûre en renfermât à peu près le même nombre, ce qui, avec un peu d'expérience et d'exercice, n'est pas aussi difficile que cela paraît. La levûre de A se composait donc exclusivement de Sacch. cerevisiæ, celle de B, de cette dernière espèce et de Sacch. apiculatus, et celle de C, exclusivement de Sacch. apiculatus. La levûre employée était dans tous les cas saine, pure et normale, et on avait pris toutes les précautions nécessaires pour se mettre à l'abri des organismes étrangers. Tous les ballons ont autant que possible été traités de la même manière de sorte qu'ils ne différaient entre eux que par leur contenu en levûre. Au commencement de l'expérience, l'unité de volume choisie renfermait 33 cellules de Sacch. cerevisiæ dans A et B, plus 62 cellules de Sacch. apiculatus dans B, et dans la même unité, dans C, il y avait 64 cellules de cette dernière levûre. Après un séjour de 13 jours dans le thermostat, à un température de 8—10 C, on a compté dans l'unité de volume

dans A, 300 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication, 9),

dans B, 250 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication, 7,5) et 260 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication, 4,2),

dans C, 670 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication, 10,4),

La proportion d'alcool dans A était de 6 vol. %.
— — B — $5^7/_8$ —
— — C — $^7/_8$ —

2e série d'expériences.

Faite de la même manière que la précédente; l'unité de volume renfermait dans A et B 29 cellules de Sacch. cerevisiæ, plus 64 cellules de Sacch. apiculatus dans B, et elle contenait dans C 64 cellules de cette dernière espèce. Après un séjour de 9 jours dans le thermostat à une température de 11—13° C., on a observé dans l'unité de volume:

dans A, 364 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication, 12,5),

dans B, 243 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication, 8,3) et 294 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication, 4,5),

dans C, 1050 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication, 16,2).

La proportion d'alcool dans A était de $6^1/_8$ vol. %.
— — B — $5^3/_4$ —
— — C — $^7/_8$ —

Ces chiffres montrent que les deux rivaux exercent l'un sur l'autre une action réciproque, qu'ils se portent mutuellement préjudice, mais que le Sacch. cerevisiæ a le dessus et qu'il refoule le Sacch. apiculatus. D'autres expériences semblables faites aux températures de 23—24 et 27° C. ont donné le même résultat, mais les différences entre A et B ici étaient plus marquées. Ces expériences ont cela d'intéressant qu'elles montrent clairement que le rival le plus faible ralentit réelle-

ment la multiplication du plus fort; mais elles ne nous apprennent rien sur l'activité fermentative des cellules isolées.

Si le liquide nourricier, la température, l'accès de l'air atmosphérique, en un mot tous les facteurs, le nombre des cellules excepté, sont les mêmes dans les ballons A, B et C, un changement dans ce seul facteur, comme aussi dans le rapport entre le nombre des cellules de chacun des deux ferments, pourra modifier le résultat. Pour que le Sacch. apiculatus puisse exercer une influence sensible sur le Sacch. cerevisiæ, il faut qu'il ne soit pas en trop petite quantité dans le mélange. Les deux séries d'expériences qui suivent et qui ont été exécutées comme les précédentes, montrent ainsi que le Sacch. apiculatus est presque sans action sur son rival lorsque le ballon B, au début de l'expérience, renferme environ le même nombre de cellules de chacun des deux ferments:

1re série d'expériences.

Au début de l'expérience, l'unité de volume renfermait 19 cellules de Sacch. cerevisiæ dans A et B, plus 22 cellules de Sacch. apiculatus dans B, et dans C 22 cellules de cette dernière espèce. Après un séjour de 9 jours dans le thermostat à une température de 11—14° C., on a observé dans l'unité de volume:

dans A, 333 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication 17.5),

dans B, 312 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication 16,4) et 130 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication 5,9),

dans C, 1128 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication 51,3).

La proportion d'alcool dans A était de $5^1/_2$ vol. %.

— — B — $5^1/_2$ —

— — C — $^5/_8$ —

2e série d'expériences.

Au début de l'expérience, l'unité de volume renfermait 22 cellules de Sacch. cerevisiæ dans A et B (peut-être 24 dans B), plus 19 cellules de Sacch. apiculatus dans B, et dans C 20 cellules de cette dernière espèce. Après un séjour de 13 jours dans le thermostat à une température de 8—10° C., on a compté dans l'unité de volume:

dans A, 242 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication 11),

dans B, 240 cellules de Sacch. cerevisiæ (multiplication 10 ou 10,9) et 45 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication 2,3),

dans C, 791 cellules de Sacch. apiculatus (multiplication 39,5).

La proportion d'alcool dans A était de 6 vol. %.

— — B — 6 —

— — C — $^1/_2$ —

Comme d'habitude, le Sacch. cerevisiæ a dans B réduit la multiplication du Sacch. apiculatus, et celui-ci, dans les ballons C, où il était seul, s'est multiplié plus fortement que le Sacch. cerevisiæ dans les ballons A, dans les mêmes conditions. Ces résultats ont aussi été confirmés dans une série d'expériences que j'ai faites dans d'autres buts, mais en me servant aussi de ballons Pasteur à deux cols et d'un liquide nourricier analogue, et en opérant à des températures comprises entre 8 et 31° C. A la fin de toutes les séries d'expériences mentionnées ci-dessus, la levûre était exempte d'organismes étrangers et les cellules du Sacch.

cerevisiæ paraissaient toujours être saines et normales: il en était de même des cellules du Sacch. apiculatus dans C; mais dans B, où elles se trouvaient mêlées avec celles du Sacch. cerevisiæ, elles étaient souvent fortement réfringentes et avaient un aspect maladif, ce qui provient sans doute de ce qu'elles avaient passé quelque temps dans un liquide contenant beaucoup plus que 1 vol. °/o d'alcool. C'est seulement aussi au début de la fermentation qu'elles luttent avec quelque énergie contre les cellules rivales. La levûre procréée du Sacch. apiculatus était toujours d'une couleur plus foncée que celle du Sacch. cerevisiæ.

Lorsque le Sacch. apiculatus, pendant l'été, est emporté çà et là par le vent, il peut aussi s'introduire dans les brasseries, dans le moût des rafraîchissoirs et dans celui qu'on filtre à travers les sacs. De là il peut également, avec ces liquides, passer dans les tonneaux à fermentation, et, d'après ce que nous venons de voir, prendre part pour un peu de temps à la fermentation principale en entravant jusqu'a un certain degré la propagation des cellules du Sacch. cerevisiæ. Mais il ne tarde pas à être refoulé, et lorsqu'il passe avec la bière dans les tonneaux de garde, il demeure inactif et comme engourdi dans le liquide alcoolique, s'il n'y périt point. Mais que quelques-unes de ses cellules du moins puissent se maintenir vivantes pendant deux mois dans de la bière basse de garde à la température des caves, même si elles ont pris part avec le Sacch. cerevisiæ à la fermentation principale, c'est ce dont je me suis assuré par des expériences directes.

Si nous résumons les recherches qui précèdent, nous trouvons que les résultats principaux qu'elles ont donnés sont les suivants:

1) Le Sacch. apiculatus est un ferment alcoolique qui se distingue par sa forme très caractéristique. Grâce à cette circonstance, il a été possible de le suivre dans la nature pendant toutes les saisons de l'année.

2) Les fruits mûrs doux et juteux (groseilles à maquereau, cerises, prunes, etc.) constituent son habitat et sa nourriture normale pendant l'été. Il s'y multiplie et est ensuite dispersé au loin par le vent. Ce n'est qu'exceptionnellement pendant cette saison qu'on le trouve ailleurs au-dessus de la terre. Les fruits de l'espèce ci-dessus mentionnée qui mûrissent les premiers nourrissent les premières générations, et ceux qui mûrissent plus tard, les dernières.

3) Il est entraîné par la pluie et avec les fruits tombés dans la terre, où il passe l'hiver, pour recommencer l'été suivant la même circulation.

4) Ce ferment produit deux espèces de bourgeons, à savoir les bourgeons types en forme de citron et ceux qui sont plus ou moins ovales; les premiers prennent surtout naissance au début du bourgeonnement et ont alors la prépondérance, les seconds naissent plus tard et deviennent ensuite les plus nombreux. Les cellules ovales sont dans leur développement soumises à cette loi, que, pour revêtir la forme type de l'espèce, elles doivent produire un ou plusieurs bourgeonnements; à cet égard, la cellule fille devance souvent sa cellule mère.

5). Le Sacch. apiculatus est une levûre basse dont le pouvoir fermentatif est assez faible. Dans les circonstances où le Sacch. cerevisiæ produit jusqu'à 6 vol. % d'alcool, il n'en donne pas plus de 1. La bière qu'il produit a une odeur et un goût particuliers.

6). Contrairement à ce que nous savons des autres espèces de Saccharomyces, il ne produit pas d'invertine et, par suite, ne peut intervertir la saccharose ni faire naître la fermentation alcoolique dans une dissolution de celle-ci.

7). Le Sacch. apiculatus a la vie très dure et supporte non seulement une dessication de plusieurs mois lorsqu'il est dans la terre, mais est aussi alors peu sensible aux variations thermométriques et hygrométriques.

8). En concurrence avec le Sacch. cerevisiæ, il est bien refoulé comme étant le plus faible, mais il peut cependant aussi ralentir la multiplication de son rival. Dans des expériences faites de la même manière avec du moût de bière comme liquide nourricier, à des températures comprises entre 8 et 31° C., et où chacun des deux ferments était dans un ballon à part, le Sacch. apiculatus s'est multiplié plus fortement que le Sacch. cerevisiæ.

9). On a, p. 175, appelé par occasion l'attention sur l'emploi du réfractomètre de M. Abbe dans les recherches physiologiques sur la fermentation, et montré en même temps qu'on pouvait s'en servir comme d'un moyen pour reconnaître des falsifications dans les boissons fermentées.

Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques.

Par

Emil Chr. Hansen.

Les chambres humides les plus employées dans les recherches sur l'évolution des organismes microscopiques sont certainement celles de MM. Böttcher et Ranvier. Elles ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients particuliers.

La chambre nouvelle que j'ai construite et dont je donne ici une description, est un essai pour réunir dans un même appareil tous les avantages des deux types ci-dessus mentionnés.

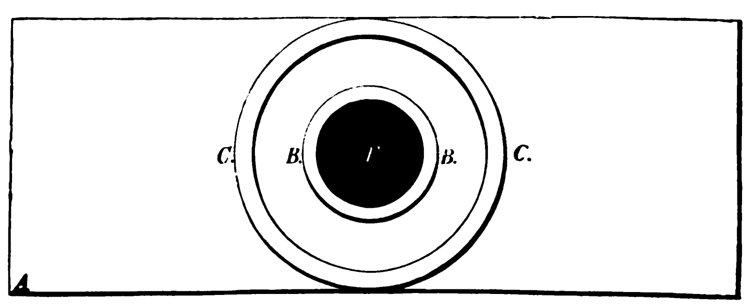


Fig. 1.

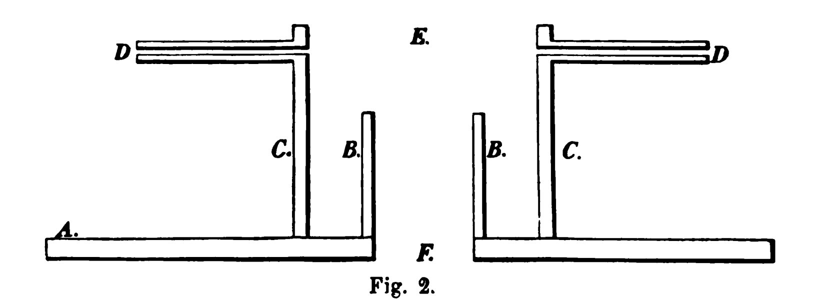


Fig. 2.

Comme le montrent les Fig. 1 et 2, elle se compose d'une lame porte-objet (*A*), avec une ouverture circulaire (*F*) surmontée d'un anneau (*B*) et entourée à une certaine distance d'un autre anneau plus élevé (*C*), à la partie supérieure duquel sont disposés, parallèlement au plus grand côté de (*A*), deux tubes (*D*), qui font communiquer la chambre avec l'air extérieur. Les tubes sont seulement représentés dans la Fig. 2, qui est une coupe longitudinale de tout l'appareil. L'intervalle entre les deux anneaux est rempli d'eau distillée et l'ouverture supérieure (*E*), fermée avec un disque en verre. Le liquide nourricier et l'organisme à examiner sont placés sur la face supérieure d'une lamelle couvre-objet, qui, chaque fois qu'une culture doit commencer, est collée avec de la vaseline sur la face inférieure de la lame (*A*), au-dessous de l'ouverture (*F*), qui est alors fermée. Il faut aussi, cela va sans dire, que le disque en verre mentionné plus haut soit fixé à l'anneau (*C*) à l'aide d'une substance convenable, la vaseline par exemple. Lorsque les tubes (*D*) ne servent qu'à l'introduction de l'air atmosphérique, il est bon, avant de commencer une expérience, de les fermer avec du coton bien épuré.

Dans cette chambre, le liquide nourricier a, comme dans celle de M. Böttcher, une surface libre (mais elle est tournée vers le haut et non vers le bas, ce qui est souvent un avantage), et un lit tranquille comme dans celle de M. Ranvier. Une autre bonne qualité de mon appareil, c'est que l'eau qui doit s'opposer à l'évaporation du liquide nourricier y est, comme dans cette dernière chambre, séparée de celui-ci. Sa construction permet en outre d'y introduire du liquide nourricier frais et d'enlever des parties de celui qui a servi, sans que pour cela on ait besoin, du moins dans certaines conditions, de troubler la végétation qui a pris naissance; on peut donc, après avoir commencé avec la culture d'une cellule isolée, passer par degrés à une culture en masse.

Cette chambre ne peut naturellement être employée qu'avec des microscopes dont l'objectif est disposé au-dessous et le miroir éclairant au-dessus de l'objet qu'on désire examiner. Ces „microscopes renversés" sont construits par la maison Nachet, à Paris. Le laboratoire de Carlsberg en possède un exemplaire du nouveau grand modèle. M. Pasteur et M. Nachet ont aussi construit chacun une chambre humide à l'usage de ces microscopes; elles diffèrent de celle qui vient d'être décrite par l'absence d'un bassin rempli d'eau pour empêcher l'évaporation du liquide nourricier.

C'est surtout pour l'étude de certaines formes difficiles (comme le Mycoderma aceti, par ex.), qui exigent pour leur développement un liquide nourricier à surface libre et de l'air en abondance, que la nouvelle chambre doit être préférée. On peut aussi avec avantage s'en servir dans d'autres recherches, l'expérimentateur étant plus facilement à même, avec son aide, de poursuivre le développement d'un champignon d'un ordre plus élevé, tel que le Coprinus, depuis le spore jusqu'à la formation du chapeau.

Recherches sur l'invertine.

Par

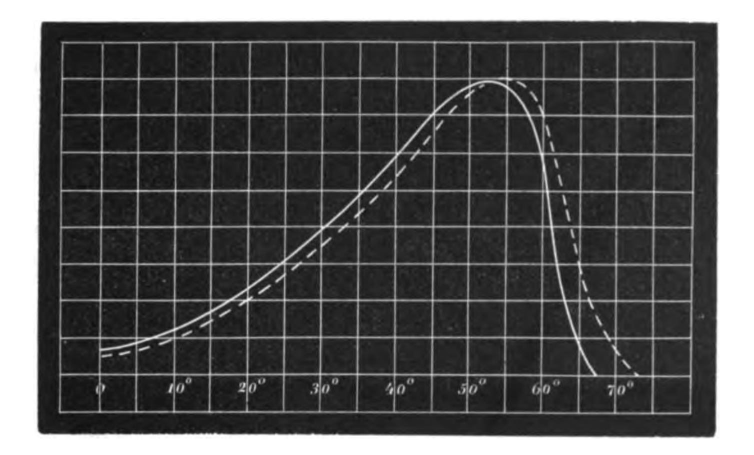
M. J. Kjeldahl.

Les recherches sur l'invertine, le ferment qui dédouble le sucre de canne, peuvent se faire d'après le même plan qui a été suivi pour la diastase (cf. la livraison de 1879, p. 111), comme il est très facile, avec le polarimètre, de déterminer l'étendue de la réaction et par suite l'influence des conditions extérieures sur le ferment. Par contre, on ne saurait guère déduire de là une méthode pour la détermination de la quantité d'invertine contenue dans la cellule qui la produit, parce que nous ne pouvons pas isoler complètement ou presque complètement ce ferment de sa cellule comme la diastase du malt; la cellule en retient toujours la plus grande partie, soit à cause de la difficile diffusion du ferment à travers ses parois, qui ne se laissent pas écraser ni triturer d'une autre manière, soit que la faculté fermentative soit en partie indissolublement liée au plasma.

Je me suis servi pour mes recherches d'un extrait aqueux de evûre basse et, dans quelques cas, d'une dissolution de ferment purifiée par plusieurs précipitations avec l'alcool (même action, seulement plus faible), ou d'un mélange de levûre avec une petite quantité d'une solution de thymol. J'ai d'ailleurs suivi absolument le même plan que dans mon travail sur la diastase.

Influence de la température.

Cette influence est rendue visible par les courbes Fig. 1, dont les abscisses sont proportionnelles aux températures et les ordonnées, aux quantités interverties de sucre de canne. La courbe pleine indique l'action de la levûre basse et la courbe ponctuée, celle de la levûre haute.



La levûre basse produit donc l'inversion la plus forte à 52—53°, et la levûre haute à 56° environ, températures qui sont voisines de celle où la levûre meurt et, en tout cas, bien supérieures à la température optimum de la fermentation alcoolique. Si on les dépasse, l'action décroît très rapidement et s'arrête, pour la levûre basse, un peu au-dessous, et, pour la levûre haute, un peu au-dessus de 70°.

Influence de la concentration.

L'invertine présente sous ce rapport un grand contraste avec la diastase. Son action croît très fortement avec la concentration jusqu'à ce que celle-ci ait atteint 20 °/o. Avec des dissolutions encore plus concentrées, sa détermination devient un peu incertaine.

Influence du temps.

L'action de l'invertine est très lente, et si le ferment est en petite quantité, elle se poursuit encore au bout de 24—48 heures. Dans les premières périodes, la transformation est proportionnelle au temps écoulé et elle l'est aussi jusqu'à un certain point à la quantité de ferment, tant que la proportion du sucre de canne interverti ne dépasse pas 40 °/o. Cette proportionnalité est cependant bien moins marquée que pour la diastase (cf. la livraison de 1879, p. 117).

Les alcalis, de même que les sels de mercure, exercent une influence très nuisible sur l'invertine. Les acides augmentent d'abord son action, mais l'affaiblissent fortement si l'on en ajoute un peu plus et l'augmentent de nouveau si l'on en ajoute encore davantage. Ce dernier effet est dû à l'action directe des acides sur le sucre de canne, tandis que les deux premiers sont le résultat de l'influence d'abord

stimulante et puis affaiblissante qu'ils exercent sur l'invertine comme sur la diastase.

L'invertine est sans action sur la maltose, qui n'est pas non plus transformée en dextrose par ce ferment uni à la diastase. La fermentation accélérée par une addition d'extrait de malt ne peut donc être attribuée à l'action combinée de ces deux ferments. Le Penicillium glaucum, qui intervertit les dissolutions de sucre de canne, se développe dans une dissolution de malt sans la décomposer. Les différentes dextrines, l'inuline, la gomme et, il va sans dire, la dextrose et la lævulose, ne sont pas influencées par l'invertine.

Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge et du malt, spécialement au point de vue de la présence du sucre de canne.

Par

M. J. Kjeldahl.

L'analyse quantitative des hydrates de carbone se fait ordinairement en déterminant leurs pouvoirs rotatoire et réducteur. Un hydrate de carbone isolé peut ainsi être déterminé de deux manières et, par conséquent, avec une grande sûreté; mais si l'on a affaire à des mélanges, cette détermination devient plus difficile et, dans beaucoup de cas, impossible. La précipitation ou l'extraction avec l'alcool concentré ne donne pas un résultat satisfaisant; le précipité renferme des substances qui, à proprement parler, sont solubles dans l'alcool, et, par le second procédé, on n'arrive pas à avoir ces substances complètement dissoutes (par exemple un mélange de maltose et de dextrine). La fermentation donne un résultat analogue; il est rare qu'elle se poursuive jusqu'au bout, et il reste par suite dans le liquide une certaine quantité de sucre qui entrave la recherche des substances non fermentescibles. Mais elle peut souvent fournir des renseignements ou des indices sur la nature des substances fermentescibles; dans les extraits aqueux de malt faits à froid, le sucre ou plutôt le mélange de sucres qui fermente et qui constitue environ la moitié des corps solubles, aura en moyenne un pouvoir rotatoire $(\alpha)_D = 65^0$ (à peu près comme le sucre de canne) et un pouvoir réducteur égal à 66 (à peu près comme la maltose); la maltose est donc mêlée ici avec des sucres ayant un pouvoir rotatoire bien plus faible. Dans les mélanges de maltose et de dextrose, les deux sucres fermentent à côté l'un de l'autre, le second cependant plus vite que le premier. Une dissolution qui renfermait

Dextrose	4,79 %
Maltose	5,11 -

contenait après 24 heures de fermentation

Dextrose	2,96 %
Maltose	3,51 -

et après 48 heures de fermentation

Dextrose .... 0,85 %
Maltose .... 2,54 -

Avec le sucre interverti, la rotation, comme M. Dubrunfaut l'a fait voir, reste la même jusqu'à ce qu'il en ait disparu la moitié, et le reste, qui marque alors $(\alpha)_D^{20°} = -43°$, a la même composition que le produit de l'inversion de la synanthrose. Après cette période, la rotation diminue, tandis que la valeur de $(\alpha)_D$ pour la portion non fermentée croît constamment, la dextrose continuant de fermenter relativement le plus vite.

Par l'ébullition avec des acides étendus dans des conditions convenables, on peut souvent analyser un mélange plus compliqué d'hydrates de carbone en observant la rotation et la réduction tant avant qu'après ce traitement. On détermine ainsi la dextrose, la maltose et la dextrine dans la même dissolution en faisant bouillir celle-ci, qui doit en renfermer 1—2 %, pendant 2 heures avec $^1/_{20}$—$^1/_{10}$ vol. d'acide chlorhydrique à 25 % et en se servant ensuite des 4 équations suivantes (où α et S désignent la rotation[1]) et la réduction avant le traitement par l'acide, α' et S', les mêmes grandeurs après, et a, b et c, respectivement la dextrose, la maltose et la dextrine):

$$\alpha = 0{,}53\,a + 1{,}38\,b + 1{,}97\,c \quad (1)$$
$$S = a + 0{,}61\,b \quad (2)$$
$$\alpha' = 0{,}53\,a + 0{,}56\,b + 0{,}59\,c \quad (3)$$
$$S' = a + 1{,}05\,b + 1{,}11\,c \quad (4)$$

d'où l'on tire:

$$b = 3{,}68\,(\alpha - \alpha') - 4{,}57\,(S' - S)$$
$$c = -1{,}465\,(\alpha - \alpha') + 2{,}72\,(S' - S).$$

Les équations (1) et (2) donnent respectivement pour la valeur de a:

$$a = -2{,}24\,\alpha + 4{,}13\,\alpha' + 1{,}79\,(S' - S)$$
$$a = -2{,}24\,(\alpha - \alpha') + 2{,}79\,S' - 1{,}79\,S.$$

De petites erreurs d'observation ont cependant ici une grande influence sur les résultats.

Mais la méthode n'est pas applicable aux mélanges qui donnent du sucre interverti (ou de la lævulose) à côté de la dextrose (p. ex. des mélanges de sucre de canne et de maltose), parce que la lævulose est modifiée, surtout quant à son pouvoir rotatoire, avant que la maltose, la dextrine, etc. soient complètement transformées. Tandis, par exemple, que 1 gr. de maltose dissous dans 100 cent. cub. d'eau exige pour sa transformation au moins 5 c. c. d'acide chlorhydrique concentré, on ne peut, pour le sucre de canne, aller au delà de $^1/_2$ cent. cub.

Par contre, le sucre de canne se laisse doser avec une grande sûreté à l'aide de l'invertine à côté de presque tous les hydrates de

[1]) Toutes les observations sont faites à la lumière du sodium et rapportées à une longueur de tube de 100 millim.

carbone (et autres substances) avec lesquels il est ordinairement mêlé. Après avoir d'abord déterminé la rotation et la réduction (α et S) de la dissolution donnée, on en prend un certain volume, 50 cent. cub. par exemple, qu'on mélange avec quelques centimètres cubes d'une dissolution concentrée d'invertine (extrait de levûre) et expose pendant 24 heures à la température optimum de l'invertine, 52^0; puis on porte le volume de la dissolution à 100 cent. cub., filtre et détermine la rotation (à 20^0) et la réduction rapportées au volume primitif (α' et S'). Comme 1 % de sucre de canne ($(\alpha)_D = 66^0{,}6$) donne 1,05 % de sucre interverti ($(\alpha)_D\,{}_{20^0} = -21^0{,}5$), la diminution du pouvoir rotatoire pour chaque centième de sucre de canne contenu dans la dissolution sera $\alpha - \alpha' = 0{,}666 + 0{,}215 \,.\, 1{,}05 = 0^0{,}892$, tandis que l'augmentation du pouvoir réducteur sera $S' - S = 1{,}05$ %. On peut donc déterminer le sucre de canne soit en divisant la diminution du pouvoir rotatoire par 0,892, soit en divisant l'augmentation du pouvoir réducteur par 1,05, et la concordance des résultats donnera à cette détermination la même certitude que l'analyse d'un hydrate de carbone isolé. Il est bon de procéder en même temps à une détermination parallèle avec une dissolution d'invertine „passive", c'est-à-dire qui a été chauffée à 100^0 avant d'être ajoutée à la dissolution de sucre, les valeurs qu'on trouve alors pour α et S devant concorder avec celles de la dissolution primitive. Au lieu d'une dissolution d'invertine, on peut employer avec avantage un mélange de levûre fluide (bien lavée) et d'une petits quantité d'une dissolution alcoolique de thymol, substance qui possède à un haut degré la propriété commune à un grand nombre de combinaisons aromatiques d'empêcher toute espèce de fermentation, sans exercer d'action sensible sur les ferments solubles, par exemple la diastase[1]) et l'invertine. Un mélange de levûre et d'une dissolution de thymol se comportera donc essentiellement comme une dissolution d'invertine. Il faut également ici faire une détermination parallèle avec de la levûre „passive", c'est-à-dire portée préalablement à l'ébullition. Exemple:

Dissolution de sucre de canne à 3,15 %
$\alpha = 2^0{,}10$; $S = 0$.
Essai avec de l'invertine passive,
$\alpha = 2^0{,}10$; $S = 0$.
Essai avec de l'invertine active,
$\alpha' = -0^0{,}72$; $S' = 3{,}25$ %
$\alpha - \alpha'$ donne $2{,}82 : 0{,}892 = 3{,}16$ % de sucre de canne
$S' - S$ — $3{,}25 : 1{,}05 = 3{,}10$ % id.
moyenne 3,13

1) Cela peut s'appliquer à la série d'expériences mentionnée p. 131 (liv. de 1879). Une dissolution contenant p. ex. par litre 37gr,5 d'amidon et 1 gr. de thymol (dissous dans 50 cent. cub. d'alcool), s'est pendant plusieurs mois maintenue sans altération à la température ordinaire, et pouvait toujours servi· à la détermination de la diastase.

Le sucre de canne se laisse déterminer presque avec la même sûreté dans un mélange contenant du sucre interverti, de la maltose, de la dextrine, de l'inuline, etc. Parmi les autres hydrates de carbone qui sont influencés par l'invertine, la synanthrose (se trouve dans le seigle d'après M. Müntz) a seule quelque importance; mais dans son inversion, la diminution du pouvoir rotatoire et l'augmentation du pouvoir réducteur sont dans un rapport tout autre que pour le sucre de canne ($\frac{\alpha - \alpha'}{S' - S} = 0°,446$ pour la synanthrose et $0°,850$ pour le sucre de canne), de sorte qu'il ne peut être question de les confondre. D'autres hydrates de carbone qui sont intervertis par la levûre apparaissent trop rarement pour présenter quelque intérêt.

Exemple d'une détermination de sucre de canne dans une dissolution complexe:

100 cent. cub. de la dissolution renfermaient:

Maltose	5	gram.
Dextrose	5	-
Sucre interverti	5	-
Dextrine..........	5	-
Inuline	1	-
Sucre de canne	1	-

$\alpha = 18°,04$; $S = 13,47$ %

$\alpha' = 17°,18$; $S' = 14,62$ %

$\alpha - \alpha' = 0°,86$ donne 0,96 % de sucre de canne

$S' - S = 1,11$ % - 1,06 % —

moyenne 1,01 % —

Dans les analyses des extraits de plantes, il faut, en général, à cause de la décoloration, ajouter un peu de sous-acétate de plomb. Il importe que ce réactif ne soit pas en excès sensible, en partie parce que la filtration devient alors plus difficile, en partie parce qu'il forme avec plusieurs hydrates de carbone des combinaisons plombiques dans lesquelles ces derniers ont un pouvoir rotatoire autre que celui qu'ils ont ordinairement. C'est ainsi que le pouvoir rotatoire de la lævulose est renversé de gauche à droite (Haughton Gill) et que celui de la maltose subit une forte diminution; mais en rendant la dissolution acide on rétablit la rotation normale. Plusieurs espèces de sucres colorent, au bout de quelque temps, la dissolution plombique de teintes particulières, la dextrose, par exemple, en rouge brun et la maltose en beau rose; la coloration disparaît par l'agitation du liquide.

La méthode de l'invertine s'applique peut-être aussi à la recherche microchimique du sucre de canne, pour laquelle il n'existe pas jusqu'ici de procédé satisfaisant.

La présence du sucre de canne dans l'orge germée et non germée a été constatée, en 1875, par M. Kühnemann, qui en a trouvé dans la première 0,6 % ou davantage. En employant la méthode de l'invertine, j'ai pu en doser 2 % et quelquefois davantage dans le malt touraillé. Si l'on pousse plus loin le séchage du malt en l'exposant, par exemple, pendant 24 heures, à la température de

100°, la proportion du sucre de canne augmente encore et s'élève jusqu'à 3—3½ %, tandis qu'un extrait de malt vert n'en renferme presque pas du tout. Cela prouve qu'il existe dans le malt un ferment inversif très actif (indiqué par M. H. Brown), dont l'action, dans le malt touraillé, est affaiblie par la chaleur, et qui, à une température encore plus élevée, peut être complètement détruit. Un extrait de malt touraillé contient donc un peu de sucre interverti et un extrait de malt vert, une quantité encore plus grande. Par conséquent, pour trouver combien le malt vert renferme réellement de sucre de canne, il faut empêcher que le ferment n'agisse pendant l'extraction. On y arrive, soit en employant des antiseptiques, par exemple une dissolution aqueuse saturée d'acide sulfureux, étendue de 4 parties d'eau — on se débarrasse ensuite de l'acide sulfureux par l'eau de baryte et de la baryte en excès par l'acide carbonique — soit par la dessication avec l'alcool absolu et en chauffant pendant quelque temps à 100° la masse desséchée. On ne dissout ainsi que 15—16 % de malt vert, mais obtient 4—5 % de sucre de canne non altéré.

Voici un exemple d'une pareille analyse.

L'extrait de malt vert renfermait 4,48 % de matière sèche (correspondant à 15,3 % de substances solubles dans le malt)

$$\alpha = 1^{0},47; \ s = 0,81 \ \%$$

60 cent. cub. d'extrait + 2 cent. cub. d'une dissolution de thymol à 1 % + 4 cent. cub. de levûre, sont exposés pendant 24 heures à la température de 52°. On ajoute 2 cent. cub. de sous-acétate de plomb, ramène le volume à 100 cent. cub. et filtre. Expérience parallèle avec de la levûre passive, rotation et réduction réduites au volume de 60 cent. cub.

Expérience avec de la levûre active: $\alpha'_{20^0} = 0^0,27$; $S' = 2,29$ %
— — — passive: $\alpha_{20^0} = 1^0,50$; $S = 0,81$ %
$\alpha - \alpha' = 1^0,23$ donne 1,37 % de sucre de canne
$S' - S = 1,48$ % · 1,41 % —
moyenne 1,39 % — ou 4,7 % du malt.

L'orge soumise au même traitement n'a donné au plus que 1,5 % de sucre de canne, de sorte que, même en tenant compte de la perte de substance due au maltage, il doit s'en former une quantité notable pendant la germination.

En employant pour la préparation de l'extrait une dissolution très diluée d'acide sulfureux (1 : 50) ou d'acide salicylique, ou bien d'autres antiseptiques également très étendus, l'action du ferment a été encore plus énergique qu'avec de l'eau pure. Il s'est dissous jusqu'à 27 % de malt vert et tout le sucre de canne a été interverti. L'acide sulfurique très étendu a de même augmenté l'action du ferment et donné une inversion correspondante; avec de l'acide un peu plus fort, la plus grande partie du sucre de canne n'a subi aucune altération, et avec de l'acide encore plus fort, il a de nouveau été interverti par l'action de ce dernier.

Le sucre de canne est en général presque complètement interverti dans le moût; cependant, dans le moût provenant d'un malt séché à une haute température, on peut souvent rencontrer du sucre de canne

qui est rapidement interverti par l'addition de la levûre. L'extrait sec renferme alors 6 % environ de sucre interverti.

La production du sucre de canne pendant la germination et l'apparition d'un ferment inversif semblent indiquer que le sucre interverti joue un rôle dans la nutrition de l'embryon. La diastase et le ferment inversif ne sont pas également répartis dans le grain germant; la première manque ainsi dans la radicule tandis que le second s'y trouve. On doit poser en fait que l'inversion du sucre de canne dans le malt qui a lieu pendant la germination comme pendant l'extraction par l'eau, n'est due qu'à l'action de ce ferment inversif et ne peut en aucune manière être attribuée aux acides faibles qui se produisent pendant le maltage.

Comme l'empois traité par l'extrait de malt donne de la dextrine à côté du sucre, il était à supposer qu'il y en avait dans l'orge et surtout dans le malt, et c'est pourquoi on mentionne en général comme étant de la dextrine les hydrates de carbone qui, après le traitement par les acides, donnent du sucre réducteur. Mais des recherches plus approfondies sur l'apparition de la dextrine ont toutes abouti à un résultat négatif. Il faut donc admettre ou que la dextrine se produit en très petite quantité, ou qu'elle subit une rapide transformation. Le précipité que donne l'alcool dans un extrait aqueux de malt fait à froid renferme entre autres un hydrate de carbone qui peut être obtenu, quoique un peu impur, en opérant comme il suit: après avoir précipité par le sous-acétate de plomb, éliminé le plomb en excès par l'hydrogène sulfuré et saturé l'acide, on évapore fortement la dissolution, précipite avec un excès d'alcool, redissout le précipité dans l'eau, précipite de nouveau par l'alcool, en continuant ainsi jusqu'à ce que la dissolution n'accuse plus d'une manière sensible la réaction du sucre, et décolore avec le noir animal. En évaporant ensuite à siccité, on obtient l'hydrate en question sous forme d'un corps transparent, et par la précipitation avec l'alcool absolu en grand excès, il se présente comme une poudre blanche. Sa composition, abstraction faite des cendres (5—6 %) semble être voisine de la formule $C^6 H^{10} O^5$, mais la présence de 1—2 % d'azote rend cette détermination incertaine.

Cet hydrate de carbone ne manifeste aucun pouvoir réducteur et n'est pas fermentescible (cependant il renferme en général une trace de sucre réducteur et fermentescible); il est difficilement soluble dans l'alcool, plus facilement pourtant que la gomme et la dextrine. Il ne donne de précipité avec le sous-acétate de plomb qu'après une addition d'ammoniaque. Avec la baryte il forme une combinaison insoluble dans $^1/_2$ volume d'alcool, et qui est décomposée par l'acide sulfurique et l'acide carbonique; mais le sulfate ou le carbonate de baryte reste en suspension dans le liquide; il en est de même du sulfure de plomb (dans les dissolutions suffisamment pures), qui passe à travers le filtre. Avec la potasse et la soude, il forme des combinaisons insolubles dans l'alcool concentré, facilement solubles dans l'eau; la dissolution se colore en jaune par l'ébullition.

Il dévie fortement à gauche le plan de polarisation. La valeur de $(\alpha)_D$ dépasse certainement — 40°; pour différentes préparations,

j'ai trouvé $(\alpha)_D = -37^0$, $(\alpha)_D = -43^0$, $(\alpha)_D = -41^0$, etc. Par l'ébullition avec les acides la déviation devient positive, l'hydrate de carbone étant alors transformé en un sucre réducteur qui ne semble différer en rien de la dextrose ordinaire; il y en avait jusqu'à 90 % du poids primitif. Cette inversion est très caractéristique pour le nouveau corps. Il n'est influencé ni par la diastase ni par l'invertine. On ne peut en déterminer la proportion, mais elle semble être faible surtout dans le bon malt. Il joue peut-être un rôle en s'opposant à la clarification de la bière.

L'analyse des mélanges d'hydrates de carbone a besoin d'un plus ample développement. La manière dont ces corps se comportent vis-à-vis des ferments pourra à cet égard fournir des indications utiles. M. Brown a constaté dans le canal intestinal l'existence d'un ferment qui est sans action sur l'empois, mais qui transforme la maltose en dextrose et, quoiqu'à un moindre degré, le sucre de canne en sucre interverti. On peut s'en servir pour doser à côté l'un de l'autre le sucre de canne et la maltose, en transformant d'abord le sucre de canne par l'invertine, et puis la maltose par le ferment intestinal. On en détermine la quantité en divisant $\alpha - \alpha'$ par 0,82 ou $S' - S$ par 0,44. Les essais que j'ai faits de cette méthode pour doser la maltose toute formée contenue dans le malt ont cependant donné des résultats moins concordants; d'après la moyenne de ces essais, le $^1/_4$ environ des substances solubles (4 % du malt) devrait être de la maltose.

RECHERCHES SUR LES ORGANISMES QUI, À DIFFÉRENTES ÉPOQUES DE L'ANNÉE, SE TROUVENT DANS L'AIR, À CARLSBERG ET AUX ALENTOURS, ET QUI PEUVENT SE DÉVELOPPER DANS LE MOÛT DE BIÈRE.

(DEUXIÈME COMMUNICATION).

PAR

EMIL CHR. HANSEN.

Depuis la première communication que j'ai faite de ces recherches dans la 2e livraison de cette Revue, 1879, I vol. p. 49, il a été publié à l'étranger un grand nombre de travaux sur les micro-organismes de l'air. Comme auparavant, ils ont surtout été provoqués par le désir de résoudre les grands problèmes de l'origine et de la propagation des maladies contagieuses. Cependant, si on les soumet à une étude critique, on voit qu'ils ont bien fourni sur plusieurs points des éclaircissements importants, mais on constate en même temps qu'ils laissent encore beaucoup de questions indécises, que les résultats qui y sont exposés sont assez souvent contradictoires, en un mot que les recherches faites dans ce domaine ne reposent pas toujours sur un fondement bien solide. C'est ce que la littérature, mentionnée dans le texte danois p. 381—390, depuis le commencement de 1879 jusqu'à la fin de 1881, montre clairement.

Les nouvelles recherches que je publie aujourd'hui sont une continuation de mes précédentes, et elles ont également eu pour but principal de contribuer aux progrès de l'industrie de la brasserie et de la physiologie de la fermentation. Elles diffèrent en outre des autres travaux qui ont paru dans ces dernières années sur les micro-organismes de l'air en ce sens, qu'elles ne se rapportent qu'à un seul liquide nourricier, à savoir le moût de bière houblonné stérilisé. Outre les flacons mentionnés dans ma première communication, je me suis servi de bocaux en verre à large orifice de 1 litre de capacité, remplis comme les flacons de liquide nourricier jusqu'aux $^{2}/_{3}$ environ, et sur lesquels j'appliquais également, en les nouant autour de l'orifice, un morceau de gaze et des feuilles de papier à filtrer (voir pour plus de détail la 2e livraison, I vol. p. 50); mais j'ai bientôt reconnu que les flacons se prêtaient mieux à

mes expériences que les bocaux. J'ai de plus employé sur une grande échelle des ballons vides d'air d'une capacité de 1/2 litre, dans lesquels je versais 150 cent. cubes de liquide nourricier. Pendant l'ébullition, je les fermais d'abord avec un couchon de Schellak et les coiffais ensuite avec de la laque à cacheter de Munich. Un trait de lime pratiqué un peu au-dessous de la pointe permettait de la détacher plus facilement lorsque le ballon devait être ouvert. Au commencement, j'ai fait usage de ballons à col droit et à col recourbé (Fig. 1 et 2). Après avoir été ouverts, ces derniers n'étaient pas refermés, ou l'on se contenait d'y mettre un bouchon en asbeste. Je supposais qu'ils donneraient une végétation plus riche que ceux à col droit, mais mon attente ne s'étant pas réalisée, je n'ai employé plus tard que des ballons de la forme représentée Fig. 1. Le renflement du tube est motivé par une raison d'économie, pour qu'on puisse l'allonger de nouveau lorsque, par suite d'ouvertures répétées, la partie supérieure s'est rompue. Dans les cas où il se produit de riches végétations, surtout de moisissures, il faut nécessairement ouvrir le ballon dans la partie inférieure et épaisse du col. Après que les ballons s'étaient remplis d'air par aspiration, on les fermait avec de la cire à cacheter et les secouait ensuite pour entrainer les poussières qui pouvaient adhérer au tube et aux parois du verre. Il arrive en effet quelquefois que des spores aspirés avec l'air y restent collés au-dessus du liquide et si on ne les ramène pas dans ce dernier, ou ils ne se developpent pas du tout, ou ils ne le font parfois que beaucoup plus tard lorsqu'on secoue par hasard le ballon et qu'ils viennent ainsi en contact avec le liquide. L'évaporation dans le ballon peut bien aussi, dans ces circonstances, provoquer une germination tardive. Après que les ballons, les flacons et les bocaux avaient été exposés à l'action de l'air et ensuite fermés on les plaçait sur des rayons, dans le laboratoire, où ils restaient un temps assez long — ce temps, pour les ballons, n'a pas dépassé 6 semaines — pour que, en partant de l'expérience déjà acquise, je pusse être certain qu'il ne se développerait plus de nouvelles formes. On procédait là-dessus l'examen microscopique. Si je n'ai pas, comme auparavant, fait usage du thermostat, c'est, d'une part, que je ne l'ai pas trouvé nécessaire, et, de l'autre, qu'il n'aurait pu renfermer le grand nombre de ballons, de flacons et de bocaux que j'ai employés.

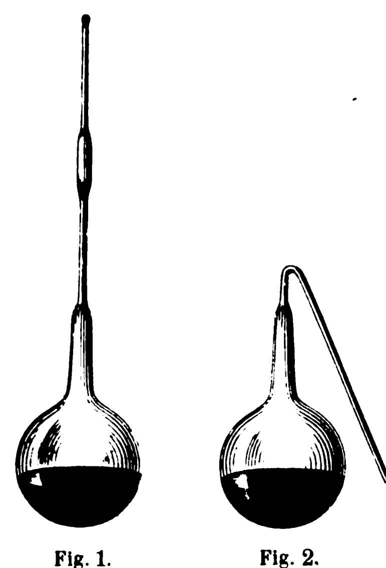


Fig. 1. Fig. 2.

Il ne sera pas inutile de remarquer ici que le moût de bière peut

bien se maintenir limpide et brun, sans être cependant tout à fait exempt d'infection. Comme je l'ai fait observer dans un mémoire antérieur, il y a en effet plusieurs formes qui peuvent développer dans ce liquide même une riche végétation sans le modifier sous ces deux rapports. Mes observations en ont depuis lors augmenté la liste. A cette classe appartiennent le Penicillium glaucum, l'Aspergillus glaucus, le Cladosporium herbarum, le Mucor, plus les deux bactéries qui forment des membranes, à savoir le Mycoderma aceti et le Myc. Pasteurianum, et la levûre qui produit également des membranes, le Saccharomyces Mycoderma. Il est sans doute relativement facile de voir s'il s'est développé ou non une membrane à la surface d'un liquide, et, à cet égard, on ne risque pas de se tromper avec les trois dernières espèces ci-dessus mentionnées; mais cela peut devenir beaucoup moins aisé quand on a affaire à des moisissures, car elles peuvent former dans le précipité que le moût bouilli laisse toujours déposer après quelque temps des amas de mycélium, ayant souvent la forme de petits polypes, qu'on peut facilement ne pas remarquer. Pour les découvrir, il faut tenir le ballon de manière que la lumière y pénètre de haut en bas à travers le liquide.

Les ballons vides d'air constituent, sous plusieurs rapport, une précieuse ressource pour les recherches dont il s'agit ici. Avec leur aide, on peut, avec une certitude relativement grande, recueillir précisément les micro-organismes qui se trouvent dans l'air au point considéré, de façon à éviter tout mélange étranger, et on est parfaitement sûr de ne laisser échapper aucun des micro-organismes contenus dans le volume d'air aspiré et déterminé à l'avance, résultat que ne donne pas la méthode des aspirateurs. L'expérience a en outre montré qu'on obtient avec eux ce que M. Miquel, dans ses expériences d'aspiration, appelle un ensemencement fractionné, car le volume d'air aspiré est si petit qu'un grand nombre de ballons, après avoir été ouverts, ne sont souvent pas infectés, et que, dans ceux qui le sont, il se produit fréquemment des cultures pures; il est en effet très rare qu'on rencontre 3 ou 4 espèces dans le même ballon. On est donc, en les employant, relativement peu exposé aux déceptions qui résultent du combat acharné pour l'existence que se livrent, au sein du liquide nourricier, une série plus ou moins nombreuse d'organismes divers, dont les plus faibles peuvent finalement être refoulés à ce point qu'il devient ensuite impossible de les observer. Que, d'un autre côté, ils présentent aussi quelques inconvenients, cela va sans dire. Ils ne font, par ex., connaître le contenu de l'air en micro-organismes que pour un moment assez court et un petit volume d'air. Pour y remedier un peu, j'ai employé dans mes nouvelles recherches des ballons plus grands que ceux dont je m'étais servi auparavant. On en a en outre ouvert un nombre relativement considérable dans quelques séries d'expériences, par ex., jusqu'à 80 dans l'espace de deux heures. Les flacons fournissent un supplément utile, car lorsqu'on les expose pendant un temps convenable (dans les expériences qui suivent, 48 heures) à l'action directe de l'air, ils donnent une riche moisson. Je n'en ai pas fait usage dans l'intérieur de la brasserie, parce que, dans ces locaux où circulent un si grand nombre d'ouvriers, il n'est pas facile de trouver une place où l'on puisse être sûr qu'ils resteront en repos. Ils n'offrent

pas d'ailleurs autant de garanties que les ballons, et c'est pourquoi je ne les ai employés à l'air libre que conjointement avec ces derniers.

Les échantillons de l'air ont été pris dans le jardin de Carlsberg, sous la treille et sous les cerisiers, dans les caves de fermentation basse du vieux Carlsberg, dans les caves analogues A, E et I d'une deuxième brasserie N, dans celles d'une troisième brasserie M, dans la cave du maltage pneumatique du vieux Carlsberg et dans les vapeurs de la drêche, dans la cour de la même brasserie, autant que possible toujours aux mêmes endroits. L'air de la cave de fermentation du vieux Carlsberg est refroidi à l'aide de machines à produire du froid, et, avant d'y pénétrer, est purifié dans un bain de pluie saturé de chlorure de sodium. L'air de la cave du maltage est aspiré du dehors à travers un corridor, et traverse un filtre à coke sur lequel tombe un bain du pluie d'eau ordinaire. C'est dans ce corridor extérieur et dans cette cave même, près du bain de pluie, où l'air filtré afflue dans le local, que j'ai entrepris mes recherches. Les caves de fermentation des brasseries N et M sont construites sur le modèle ordinaire. Les analyses que j'ai exécutées se répartissent sur un espace de 3 ans environ; celles qui sont l'objet de ma première communication embrassent la période dépuis le 1er mai 1878 jusqu'à la fin de la même année; en 1879, elles ont été reprises en juin et poursuivies, avec tous les moyens dont disposait le laboratoire, jusque dans la première moité de décembre 1880. En 1881, on s'est borné à quelques séries d'analyses dans la cave de fermentation basse de la brasserie M. et dans la cave du maltage pneumatique du vieux Carlsberg. Comme je l'ai déjà dit dans ma première communication, l'initiative de ce travail est due au fondateur du laboratoire, M. le capitaine Jacobsen. La question de savoir si les vapeurs de la drêche contiennent ou non des ferments nuisibles a été posée en 1878 par M. Kogsbølle, mais n'a pu alors être résolue. On en trouvera la solution dans ce qui suit. Les analyses sont décrites dans la dernière partie du texte danois,

---

Les questions qui ont été éclaircies par les recherches de 1878 sont de nouveau reprises ici, pour qu'on puisse voir comment elles se comportent vis-à-vis des nouvelles analyses. Cependant, il sera aussi exposé des points de vue auxquels ma première communication ne pouvait avoir égard.

Dans son livre sur la bière et ses maladies, M. Pasteur a constaté que l'air, en des points voisins, peut renfermer au même moment non seulement un nombre différent d'organismes, mais en même temps des organismes d'espèces différentes, de sorte que les formes qui se montrent dans un endroit ne se trouvent pas dans un autre. Ces recherches ont été faites avec des ballons vides d'air dans le jardin de l'École normale et dans plusieurs pièces de cet établissement. Mes analyses de 1879 et de 1880 confirment de nouveau ce fait et font voir en outre, comme celles de 1878, qu'on peut l'observer non seulement dans l'air de différents locaux séparés les uns des autres, mais aussi dans le jardin, en

des points voisins. Cela ressort très clairement, par ex., des 48e, 18e et 20e séries de mes expériences. Les deux dernières séries montrent encore que quelques-uns des organismes qui, le 3—5 juillet, étaient abondants sous les cerisiers, avaient disparu le 23—25 du même mois. Les variations, sous ce rapport, sont en général très grandes, et il peut arriver que tels organismes qui ne se trouvaient, par ex., que sous les cerisiers et non sous la treille, se rencontrent plus tard sous cette dernière et non sous les cerisiers. C'est ainsi que l'Oidium lactis s'est, du 23 juillet au 27 août 1879, seulement montré sous les cerisiers, mais, du 1er au 3 juin 1880, seulement sous la treille, et, du 1er au 3 septembre, de nouveau seulement sous les cerisiers. Cette irrégularité dans la distribution des micro-organismes de l'air se manifeste dans chaque série d'expériences, aussi dans celles qui ont été faites avec des ballons vides d'air. Si l'on considère, par ex., les végétations qui se sont produites après l'ouverture des 80 ballons employés dans la 20e série d'expériences, on trouve non seulement que l'air, dans les points examinés (les cerisiers et la treille dans le jardin, la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg, la cave du maltage pneumatique et le corridor y attenant de la même brasserie, et les caves de fermentation basse de la brasserie N), renfermait des organismes différentes et en proportions différentes, de sorte que les dites localités présentaient des différences plus ou moins grandes, mais on voit en même temps que les ballons ouverts au même endroit et presque au même moment peuvent bien recevoir un contenu différent.

Les expériences avec les ballons permettent en outre de constater un fait que le spectacle presque journalier de masses de poussières, provenant de substances organiques desséchées, moisies et en putré-faction, qui tourbillonnent au-dessus du sol, pouvait déjà faire prèvoir, à savoir que les micro-organismes de l'air forment souvent des groupes et des nuages. Qu'il y ait aussi dans l'air des espaces vides de germes, cela résulte de la circonstance que plusieurs de mes ballons n'ont pas été infectés, et comme quelques-uns ne renfermaient qu'une seule espèce, il y a tout lieu de supposer que, dans plusieurs cas du moins, il ne s'y était introduit qu'un seul germe, d'où l'on doit tirer la conclusion probable que les micro-organismes peuvent apparaître disséminés et isolés dans l'atmosphère.

Ils ne s'y procréent pas, mais ont sur la terre leurs foyers où ils se développent et se multiplient. C'est donc du nombre et de l'état de ces foyers que dépend essentiellement le contenu de l'air en germes. Les variations atmosphériques jouent naturellement aussi un rôle important; la chaleur et l'humidité provoquent un développement plus intense, tandis que le froid l'arrète, et ces facteurs, conjointement avec le vent, les insectes, etc., influent également sur la diffusion des germes. On comprend par là que les saisons exercent bien une grande influence, mais que celle-ci ne peut pas toujours se manifester nettement, comme elle doit souvent être contrariée par l'action combinée de beaucoup d'autres facteurs. On voit en outre qu'on peut bien entreprendre des recherches sur les germes de l'air dans le voisinage du foyer de tel ou tel micro-organisme sans que les espèces en question soient recueillies, tandis qu'elles

peuvent l'être en des points même éloignés de ce foyer. Réciproquement, le voisinage d'un pareil foyer peut se déceler avec certitude, et tel sera sans doute toujours le cas si l'on a soin de faire un nombre suffisant d'analyses. C'est ce qui ressort très clairement des 20e, 22e et 25e séries d'expériences, dans lesquelles le Saccharomyces apiculatus apparait dans tous les échantillons d'air pris sous les cerisiers, mais ne le fait pas du tout ou que très rarement dans ceux provenant de la treille. Cela s'accorde avec ce que j'ai établi dans mon dernier mémoire relativement à cette espèce et à sa circulation dans la nature (cf. la 3 livraison de 1881, I vol. p. 159), à savoir que les fruits mûrs, doux et juteux constituent en été son habitat et ses milieux nutritifs proprement dits. Aux époques où les analyses des trois séries ci-dessus mentionnées ont été faites, les cerisiers avaient en effet des fruits mûrs, qui nourrissaient de nombreuses générations de cette petite levûre, tandis que les raisins ou n'étaient pas encore formés ou étaient complètement verts. Ce fait donne aussi l'explication de la grande différence constatée, dans ces deux points du jardin, entre les micro-organismes de l'air, depuis la fin de juillet jusqu'à la fin d'août 1879 et au commencement de septembre 1880; car, à ces époques, les ferments alcooliques du genre Saccharomyces se trouvaient toujours en nombre bien plus considérable sous les cerisiers que sous la treille. En conformité avec ce qui précède, ces ferments alcooliques ont été moins abondants en 1880 qu'en 1879; le jardin de Carlsberg a en effet donné peu de fruits en 1880, et notamment beaucoup moins de groseilles à maquereau que l'année précédente.

Les analyses faites au laboratoire de Carlsberg ont complètement confirmé l'exactitude de l'opinion émise par M. Pasteur, que les ferments alcooliques sont relativement rares dans les poussières de l'air. Pour éviter tout malentendu, nous devons rappeler qu'il ne s'agit provisoirement que des analyses de l'air du jardin. Celles de 1879 montrent que le nombre de ces organismes allait en croissant pendant les mois de juin, juillet et août, et atteignait son maximum à la fin d'août. Il a ensuite recommencé à décroître; cependant j'ai encore, en novembre, constaté la présence du Sacch. ellipsoideus et du Sacch. apiculatus. En 1880, comme en 1878, les organismes en question étaient surtout abondants en août et en septembre, et le maximum s'est produit dans les premiers jours de ce dernier mois. Leur apparition isolée et en très petite quantité à des époques de l'année autres que les mois d'été ci-dessus mentionnés, doit être considérée comme une exception à la règle. Le fait, par exemple, qu'un de mes flacons, en février 1886, a été infecté avec des Saccharomyces, ne saurait guère s'expliquer autrement que par des poussières que le vent a par hasard fait tourbillonner au-dessus d'un endroit où ils avaient établi leurs quartiers d'hiver.

J'ai fait voir, dans mon dernier mémoire, que le Sacch. apiculatus hiverne régulièrement dans la terre. Dans les périodes de sécheresse, il est transporté de là, surtout à l'aide du vent, sur les fruits et, en général, dans l'atmosphère; de fortes averses peuvent le projeter du sol sur les plantes; les insectes et autres petits animaux peuvent également jouer un rôle sous ce rapport (voir p. 167). Il est très probable que les autres espèces du même genre ont dans la nature une circulation ana-

logue. Pour m'en assurer, j'ai entrepris dans les dernières années une longue série de recherches. Que des formes comme le Sacch. cerevisiæ, le Sacch. Pastorianus et le Sacch. ellipsoideus puissent vivre et se multiplier sur des fruits doux et juteux, c'est un fait connu et qui a aussi été confirmé par mes observations. Des expériences directes avec ces trois espèces m'ont appris en outre que, lorsqu'on les met en automne avec de la terre dans des pots à fleurs qui sont ensuite enterrés dans le jardin, et y restent exposés sans abri à toutes les intempéries de l'air, elles s'y conservent vivantes jusqu'à l'été suivant. Il s'ensuit donc que des espèces du genre Saccharomyces autres que le Sacch. apiculatus peuvent aussi hiverner dans la terre; mais cela ne prouve pas que la terre soit pour elles, comme pour ce dernier, le lieu normal de l'hivernage. Je poursuis donc encore ces recherches et en communiquerai le résultat dans un autre mémoire. D'après ce qui précède, il y a tout lieu de supposer qu'il y a en général dans la nature deux sources principales pour l'infection par les ferments alcooliques, à savoir le milieu nutritif, que fournissent les fruits, et le lieu de l'hivernage, la terre[1]). Il faut en ajouter une troisième pour Carlsberg, la levûre de la brasserie, mais elle n'a certainement exercé son action que sur un seul point, la cour de la brasserie (analyses des vapeurs de la drèche); elle n'a eu du reste sur mes expériences qu'une influence très faible ou nulle, car autrement le Sacch. cerevisiæ aurait dû, aussi en hiver, se montrer plus fréquemment dans les flacons que j'avais exposés. Il était à supposer que, des deux autres sources, la première, le milieu nutritif, devait être la plus importante, et tel est aussi réellement le cas. C'est pourquoi nous avons, comme il a été dit plus haut, obtenu la plus riche récolte de Saccharomyces dans la saison des fruits, en août et en septembre.

C'est aussi dans ces deux mêmes mois que les bactéries sont le plus abondantes. Par suite de sa grande richesse en bactéries et en levûres spontanées[2]), cette période de l'année est ainsi celle qui présente le plus de danger pour les brasseries. Les refraîchissoirs découverts sont surtout très exposés, et il peut facilement s'y produire des troubles.

Les micro-organismes qui peuvent être entraînés avec les poussières de l'air dans le moût de bière et s'y développer, se laissent rapporter à trois groupes principaux: les Saccharomyces, les bactéries et les moisissures. L'ordre dans lequel ils sont nommés indique le degré de leur fréquence, les Saccharomyces étant les plus rares et les moisissures, les

---

[1]) M. Boutroux a publié dernièrement un mémoire qui a beaucoup d'intérêt pour ces recherches (Sur l'habitat et la conservation des levûres spontanées. Extrait du Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie, 3e série, VIe volume). On y lit entre autres que les ferments alcooliques passent le temps qui s'écoule depuis la fin de l'hiver jusqu'à ce que les fruits soient mûrs dans des fleurs nectarifères, et que les insectes jouent un rôle capital en les transportant çà et là. Mais l'auteur ne dit pas s'ils se multiplient dans les fleurs, et il n'est guère probable qu'ils le fassent dans une proportion sensible.

[2]) Je désigne sous ce nom les Saccharomyces non cultivés, par conséquent toutes les espèces de ce genre à l'exception du Sacch. cerevisiæ.



plus communes. Les bactéries ont bien été observées plus souvent et en plus grande quantité que les Saccharomyces, mais on ne peut nullement dire qu'elles soient fréquentes; dans plusieurs des séries d'expériences faites avec des ballons vides d'air, on n'en a, par ex., pas du tout trouvé.

Parmi les moisissures, le Cladosporium herbarum et le Dematium pullulans étaient les plus fréquents, et puis venait le Penicillium glaucum; plus rares étaient le Botrytis cinerea, le Mucor racemosus, le Mucor stolonifer et l'Oidium lactis, et seulement en petite quantité et très rarement apparaissaient l'Eurotium Aspergillus glaucus, l'Aspergillus fumigatus, le Penicillium cladosporioides et trois espèces qui doivent être rapportées aux genres Monilia, Dendrodochium et Arthrobotrys. Il faut se rappeler que, depuis la page 202, il n'a été question que de l'air du jardin et que les analyses n'ont été faites qu'avec un seul liquide nourricier, le moût de bière. Si l'on en avait employé d'autres, par ex. l'extrait de viande, dont M. Miquel s'est servi, les résultats auraient été différents. Le tableau des organismes recueillis sous les cerisiers et sous la treille nous montre que, dans ces deux endroits, ce sont les mêmes formes qui, en général, ont été prédominantes, quoique, comme nous l'avons déjà dit, il y eût constamment des différences dans les analyses, tant en ce qui concerne les espèces elles-mêmes que leur quantité relative. Sous la treille, on a trouvé les suivantes, qui n'ont pas été observées sous les cerisiers: l'Aspergillus fumigatus, le Penicillium cladosporioides, des cellules ressemblant à des Sascharomyces et qui se rapprochent du Chalara Mycoderma (voir la description p. 215) et le Bacterium pyriforme. D'un autre côté, on n'a rencontré que sous les cerisiers les formes mentionnées plus haut des genres Monilia et Dendrodochium, le Bacterium Kochii et le Bacterium Carlsbergense. Aucune de ces espèces n'était abondante; au contraire, elles ont toutes sans exception été recueillis en très petite quantité, et nullement dans des conditions pouvant faire supposer qu'elles fussent liées soit aux cerisiers soit à la treille. En un mot, leur apparition semble plutôt être un accident qu'une règle, et rien n'indique qu'elles aient précisément un foyer dans un de ces deux points du jardin.

On trouvera ci-après une liste des formes qui ont été observées dans chacun des endroits qui ont servi à mes recherches[1]).

---

[1]) Comme j'ai déjà ailleurs eu l'occasion de la faire observer, il est un peu hasardeux d'attacher des noms systématiques déterminés à des formes encore incomplètement connues, et à cette catégorie appartiennent la plupart de celles qui figurent sur la liste ci-dessus. En effet les seules que nous puissons, avec quelque probabilité, supposer connaître d'une manière approximativement complète sont: l'Eurotium Aspergillus glaucus, le Penicillium glaucum, le Mucor racemosus, le Mucor stolonifer, le Botrytis cinerea, l'Oidium lactis, le Saccharomyces apiculatus et le Bacillus subtilis. Nous n'avons qu'une connaissance très imparfaite même d'espèces à organisation aussi complexe que le Cladosporium herbarum et le Dematium pullulans, et manquons surtout de notions précises sur leur delimitation par rapport aux formes voisines. Dans les divisions des bactéries et des

Dans le jardin:

Eurotium Aspergillus glaucus, Aspergillus fumigatus, Penicillium glaucum, Penicillium cladosporioides, Mucor racemosus, Mucor stolonifer, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Oidium

---

Saccharomyces, il règne une obscurité plus grande encore si c'est possible. Néanmoins je crois qu'il est bon de se servir des noms systématiques. Ils sont en effet d'un puissant secours pour donner aux lecteurs une idée de l'objet dont il est question, et sans eux il ne serait guère possible de s'exprimer avec quelque concision.

Pour suppléer aussi un peu, pour ma part, aux travaux préliminaires incomplets que nous possédons sur cette matière, j'ai depuis longtemps dirigé spécialement mes études sur les questions fondamentales concernant la délimitation des espèces du genre Saccharomyces. Dans ces »Études sur la bière«, M. Pasteur dit que ce sont des formes de moisissures ? des Dematium, et s'exprime à cet égard tantôt comme si c'était un fait acquis, tantôt avec une certaine réserve. Mais ses recherches ne prouvent pas ce qu'elles ont en vue. C'est surtout avec le Sacch. Pastorianus qu'il a expérimenté: conformément à sa manière de voir, il l'appelle »dematium levûre«, et suppose entre autres que les cellules ovales et très allongées représentées dans ces Fig. 28, Pl. X, XI et Fig. 33—37, appartiennent á une seule espèce, à savoir celle que nous venons de nommer. Mes expériences ont confirmé l'exactitude de cette dernière supposition, et je l'ai prise pour un de mes points de départ. Les formations des soi-disant ascospores m'ont fourni le second.

En reconnaissant pour juste une des idées de M. Pasteur sur le Sacch. Pastorianus, je dois cependant le faire avec cette restriction, que quelques-unes de ses figures ci-dessus mentionnées peuvent représenter d'autres espèces que celle qu'il a probablement pensé. Il existe en effet plus d'une espèce avec les propriétés qui sont attribuées au Sacch. Pastorianus, et plusieurs espèces dont la »levûre aérobie«, cultivée dans du moût de bière, se compose précisément de cellules allongées comme celles citées plus haut. J'ai en outre constaté qu'il y a un groupe d'espèces qui, après avoir été soumises à un certain traitement qui les épuise plus ou moins, acquièrent par là une tendance à développer des cellules allongées au lieu d'ovales, lorsqu'on les transporte dans un liquide nourricier favorable. Réciproquement, il y en a d'autres qui, même dans un état d'épuisement, développent des cellules allongées, et qui, après avoir été transportées dans un liquide favorable, reviennent à la forme ovale. Les différentes espèces se comportent différemment sous ces rapports, et nous fournissent ainsi de précieux caractères systématiques.

Relativement aux ascospores, on n'a pas remarqué jusqu'ici que le temps qui s'écoule jusqu'à leur formation, dans des conditions du reste égales quant au mode de culture, fournit un caractère important pour la détermination des formes. Dans des expériences que j'ai faites, en me servant de blocs de plâtre, à la température ordinaire d'un appartement, j'ai trouvé, par ex., que la forme de levûre basse du Sacch. cerevisiæ pro-

lactis, une espèce du genre Dendrodochium, une do. du genre Monilia, une do. du genre Arthrobotrys, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, cellules ressemblant au Chalara (voir la description, p. 215), cellules colorées en rouge, ressemblant à des Saccharomyces et analogues à celles qui sont décrites dans la 2e livraison vol. I,

---

venant des brasseries de Carlsberg et de Tuborg, à Copenhague, et de l'Espérance, à Schiltigheim, n'a produit des ascospores qu'au bout de 5—7 jours et d'ordinaire en très petite quantité. La levûre haute d'une brasserie, à Burton on Trent, s'est comportée de la même manière; celle d'une brasserie, à Édimbourg, en a donné en moins de temps, après 4 jours, env., et toujours en abondance. La levûre pour la boulangerie, de la fabrique de M. Borchorst, à Copenhague, se rapproche assez de cette dernière. En oppositions à ces résultats obtenus avec des levûres cultivées, quelques espèces spontanées, dans les mêmes circonstances, ont déjà développé des ascospores au bout de 2—3 jours. La température joue dans ces formations un rôle très important, mais non dans le sens indiqué par M. Reess, car une basse température ne favorise pas, mais retarde au contraire ce développement, comme le montrent les exemples suivants. La levûre haute ci-dessus mentionnée d'Édimbourg a ainsi produit des ascospores après une culture de 18—21 heures aux températures de 28—34° C., après une culture de 22 heures à 25° C. et après une culture de 75 heures à 17° C. A 37 et à 7° C. il ne s'est pas développé d'ascospores. Une des espèces que comprend le Sacch. Pastorianus de M. Pasteur en a donné après 24—25 heures aux températures de 25—28,5° C., après 35 heures à 17° C., après 7 jours à 7° C. et après 14 jours à 3° C. A 37° C., ces organes de reproduction ont cessé de se former. Une autre espèce appartenant au même groupe que la précédente s'est en général comportée comme celle-ci aux températures de 25, 17,7 et 3° C., mais n'a pas produit d'ascospores à 28° C. On voit par là que les températures maximum, optimum et minimum varient pour les différentes espèces. Ces cultures ont été faites, comme les précédentes, sur des blocs de plâtre et avec des cellules jeunes et bien vivaces. Même si on les établit dans des conditions autant que possible identiques, il peut se manifester, quand on les répète, de petites différences individuelles, mais les résultats, dans les traits principaux, sont les mêmes. Si l'on ensemence des cellules plus âgées ou affaiblies, le développement suit une marche régulièrement plus lente. Les déterminations du temps indiquent les époques où, pour la première fois, on a observé dans les cultures des rudiments distincts d'ascospores.

L'activité de la fermentation, les propriétés chimiques des cellules, la grandeur et l'aspect des spores, etc., fournissent des caractères secondaires.

Les recherches précédentes n'ont été achevées qu'en février 1882, peu avant la publication du présent mémoire, et n'ont par conséquent pu être utilisées dans la 3e partie du texte danois, p. 416—454, les analyses. Je les publierai sous une forme plus détaillée dans la continuation de mes «Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques».

Pl. II, Fig. 1—37 et 38—41, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus.

Bacillus subtilis, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme, Bact. Carlsbergense, Mycoderma aceti, microbactéries.

Dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg:

Penicillium glaucum, mycélium indéterminé, Saccharomyces cerevisiæ, microbactéries.

Dans la cave du maltage pneumatique du vieux Carlsberg:

Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Microbactéries.

Dans le corridor en dehors de la cave du maltage:

Penicillium glaucum. Penicillium cladosporioides, Cladosporium herbarum, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Microbactéries.

Dans les caves de fermentation de la brasserie N:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. glutinis.

Microbactéries, Sarcina.

Dans les vapeurs de la drêche:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma.

Bacilles, microbactéries.



Les formes observées en 1878 l'ont également toutes été en 1879 et en 1880; les nouvelles que ces deux dernières années ont apportées sont en petit nombre, et ne comprennent que des formes qui apparaissaient très rarement. Il est permis d'en conclure que la liste précédente donne un aperçu approximativement complet des micro-organismes qui, en général, peuvent être entraînés avec les poussières de l'air dans le moût de bière et s'y développer. En parcourant cette liste, on voit que toutes les formes observées dans les 5 derniers endroits ont aussi été trouvées dans le jardin, à l'exception du Sacch. glutinis et du Sarcina. Ceux-ci n'ont en effet été recueillis que dans la cave A de la brasserie N. Parmi les bactéries, les Spirilles et les Spirochètes ont toujours fait défaut, comme dans les recherches de M. Miflet. Les formes dont la présence n'a été constatée que dans l'air du jardin sont: l'Aspergillus fumigatus, le Mucor racemosus, le Mucor stolonifer, le Botrytis cinerea, l'Oidium lactis, les trois espèces appartenant aux genres Monilia, Dendrodochium et Arthrobotrys, les cellules ressemblant au Chalara, les cellules colorées en rouge ressemblant à des Saccharomyces (voir 2e livraison vol. I, Pl. II, Fig. 1—37 et 38—41), le Sacch. exiguus, le Sacch. apiculatus, le Bacillus ruber, le Bacterium Kochii, le Bact. pyriforme et le Bact. Carlsbergense.

Après avoir ainsi surtout fait connaître les résultats de mes analyses de l'air sous la treille et sous les cerisiers, je passerai maintenant à ceux qu'ont donnés mes recherches sur les vapeurs de la drèche. On trouve dans la drèche même un grand nombre de bactéries, en partie des formes comme le Bacillus subtilis, le Mycoderma aceti et les microbactéries, en partie des micrococques, aussi sous la forme de Torula. Ces organismes produisent des fermentations acides qui sont faciles à reconnaître à l'odeur. Si les bactéries pouvaient être entraînées dans l'air avec les vapeurs, la drèche dans les cours des brasseries serait très dangereuse; il est donc naturel qu'on la considère avec quelque méfiance. M. Kogsbølle avait déjà, en 1878, comme il a été dit plus haut, appelé mon attention sur l'importance de cette question, et j'ai, la même année, fait dans ce sens quelques recherches qui, pendant les deux années suivantes, du 11 juin 1879 au 1er mai 1880, ont été poursuivies sur une plus grande échelle avec des ballons vides d'air. Pour faciliter la comparaison, les chiffres ci-après ne sont calculés que pour les analyses faites du 25 juillet 1879 au 1er mai 1880, période pendant laquelle des recherches analogues ont été entreprises dans le jardin; mais le résultat général ne varie pas même en tenant compte de la période du 11 juin au 25 juillet 1879. On a trouvé infectés 30,1 % des ballons ouverts dans les vapeurs de la drèche, et constaté la présence de ferments alcooliques du genre Saccharomyces dans 12 % des ballons infectés et 3,6 % des ballons ouverts. Les bactéries ont été observées dans 8 % des ballons infectés et 2,4 % des ballons ouverts. Les analyses parallèles de l'air dans le jardin montrent que 44,4 % des ballons ouverts étaient infectés et qu'aucun d'eux ne renfermait des ferments alcooliques; il y avait des bactéries dans 8,5 % des ballons infectés et dans 3,7 % des ballons ouverts. Il résulte de ces chiffres que les vapeurs de la drèche ont infecté moins de ballons que l'air dans le jardin, et que les bactéries, en tout cas, n'étaient pas

plus abondantes dans ces vapeurs qu'à l'air libre. Il faut en outre se rappeler que quelque infection peut bien provenir des habits des ouvriers qui chargeaient ou déchargeaient les voitures de drèche. Comme c'est en général le cas, l'infection produite par les moisissures était la plus forte. Quant à la légère infection provenant des ferments alcooliques, j'ai lieu de croire qu'elle est due à des poussières de la cour de la brasserie, où la levûre, quand on en remplit de petits barils pour l'expédier, a quelquefois l'occasion de se dessécher. Les organismes observés étaient, je l'ai dit, les mêmes que ceux du jardin. Tout bien considéré, on arrive à cette conclusion probable qu'il y a à peine un seul des organismes recueillis dans les ballons qui provienne de la drèche elle-même; sa grande richesse en bactéries ne s'est en tout cas pas manifestée, et c'est là le point essentiel. Ces recherches sont donc en désaccord avec les doctrines émises par MM. Soyka et Pettenkofer, et confirment l'opinion de MM. Nägeli et Miquel.

Dans ses recherches sur le passage des bactéries dans l'atmosphère[1], qui ont été faites à l'institut hygiènique de M. Pettenkofer, M. Soyka fait en effet observer qu'il n'est besoin que de très petites forces pour mettre en mouvement des corps aussi ténus que les bactéries, et que les courants d'air qui règnent par un temps en apparance calme suffisent même pour cela. Il arrive par suite à ce résultat, que les organismes en question tourbillonnent constamment en masse dans notre atmosphère, et qu'ils sont enlevés aussi bien des surfaces sèches que des surfaces humides qui sont le siège d'une évaporation. M. Nägeli combat cette théorie dans un long mémoire[2], où il examine les lois du mouvement des plus petits corps. M. Miquel[3], de son côté, s'élève aussi avec force contre l'erreur qui s'est glissée peu à peu dans la science, que les bactéries pourraient abandonner le sol humide dans lequel elles se trouvent avant qu'il soit complètement desséché, et il établit que les vapeurs qui s'élèvent des liquides les plus impurs ou d'un sol sale et humide, dans les mêmes conditions, ne renferment jamais de germes.

Il est évident que la drèche doit être très dangereuse quand elle se dessèche assez pour que, sous l'action du vent, elle puisse envoyer dans l'air des nuages de poussière; mais heureusement elle ne reste en général pas si longtemps dans les cours des brasseries. Comme essai, j'en fis, au mois d'août 1881, par un temps sec d'été, laisser sur place, durant 24 heures, un tas qui resta, pendant le jour, exposé au soleil et à un vent léger. Le tas fut formé dans l'après-midi et le lendemain, à la même heure, je procedai aux recherches. La couche supérieure extrême était seule desséchée, et il ne semblait pas qu'il pût s'en dégager des poussières dans une proportion sensible. Une dixaine de ballons

---

[1]) Soyka, Ueber den Uebergang von Spaltpilzen in die Luft. (Sitzungsberichte der math.-phys. Classe der Akademie der Wissenschaften zu München. B. IX, 1879. p. 140).

[2]) Nägeli, Ueber die Bewegungen kleinster Körperchen (l. c. p. 389).

[3]) Miquel, Étude générale sur les bactéries de l'atmosphère. (Extrait de l'annuaire de Montsouris pour l'année 1881).

lactis, une espèce du genre Dendrodochium, une do. du genre Monilia, une do. du genre Arthrobotrys, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, cellules ressemblant au Chalara (voir la description, p. 215). cellules colorées en rouge, ressemblant à des Saccharomyces et analogues à celles qui sont décrites dans la 2e livraison vol. I,

---

venant des brasseries de Carlsberg et de Tuborg, à Copenhague, et de l'Espérance, à Schiltigheim, n'a produit des ascospores qu'au bout de 5—7 jours et d'ordinaire en très petite quantité. La levûre haute d'une brasserie. à Burton on Trent, s'est comportée de la même manière; celle d'une brasserie, à Édimbourg, en a donné en moins de temps, après 4 jours, env., et toujours en abondance. La levûre pour la boulangerie, de la fabrique de M. Borchorst, à Copenhague, se rapproche assez de cette dernière. En oppositions à ces résultats obtenus avec des levûres cultivées, quelques espèces spontanées, dans les mêmes circonstances, ont déjà développé des ascospores au bout de 2—3 jours. La température joue dans ces formations un rôle très important, mais non dans le sens indiqué par M. Reess, car une basse température ne favorise pas, mais retarde au contraire ce développement, comme le montrent les exemples suivants. La levûre haute ci-dessus mentionnée d'Édimbourg a ainsi produit des ascospores après une culture de 18—21 heures aux températures de 28—34° C., après une culture de 22 heures à 25° C. et après une culture de 75 heures à 17° C. A 37 et à 7° C. il ne s'est pas développé d'ascospores. Une des espèces que comprend le Sacch. Pastorianus de M. Pasteur en a donné aprés 24—25 heures aux températures de 25—28,5° C., aprés 35 heures à 17° C., après 7 jours à 7° C. et après 14 jours à 3° C. A 37° C., ces organes de reproduction ont cessé de se former. Une autre espèce appartenant au même groupe que la précédente s'est en général comportée comme celle-ci aux températures de 25. 17,7 et 3° C., mais n'a pas produit d'ascospores à 28° C. On voit par là que les températures maximum, optimum et minimum varient pour les différentes espèces. Ces cultures ont été faites, comme les précédentes, sur des blocs de plâtre et avec des cellules jeunes et bien vivaces. Même si on les établit dans des conditions autant que possible identiques, il peut se manifester, quand on les répète, de petites différences individuelles, mais les résultats, dans les traits principaux, sont les mêmes. Si l'on ensemence des cellules plus âgées ou affaiblies, le développement suit une marche régulièrement plus lente. Les déterminations du temps indiquent les époques où, pour la première fois, on a observé dans les cultures des rudiments distincts d'ascospores.

L'activité de la fermentation, les propriétés chimiques des cellules, la grandeur et l'aspect des spores, etc., fournissent des caractères secondaires.

Les recherches précédentes n'ont été achevées qu'en février 1882, peu avant la publication du présent mémoire, et n'ont par conséquent pu être utilisées dans la 3e partie du texte danois. p. 416—454, les analyses. Je les publierai sous une forme plus détaillée dans la continuation de mes »Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques«.

Pl. II, Fig. 1—37 et 38—41, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. apiculatus.

Bacillus subtilis, Bacillus ruber, Bacterium Kochii, Bact. pyriforme, Bact. Carlsbergense, Mycoderma aceti, microbactéries.

Dans la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg:

Penicillium glaucum, mycélium indéterminé, Saccharomyces cerevisiæ, microbactéries.

Dans la cave du maltage pneumatique du vieux Carlsberg:

Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Microbactéries.

Dans le corridor en dehors de la cave du maltage:

Penicillium glaucum. Penicillium cladosporioides, Cladosporium herbarum, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Microbactéries.

Dans les caves de fermentation de la brasserie N:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus, Sacch. Mycoderma, Sacch. glutinis.

Microbactéries, Sarcina.

Dans les vapeurs de la drêche:

Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, mycélium indéterminé, cellules ressemblant à des Saccharomyces, petites cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces (Torula de M. Pasteur, Pl. III).

Sacch. cerevisiæ, Sacch. Mycoderma.

Bacilles, microbactéries.



Les formes observées en 1878 l'ont également toutes été en 1879 et en 1880; les nouvelles que ces deux dernières années ont apportées sont en petit nombre, et ne comprennent que des formes qui apparaissaient très rarement. Il est permis d'en conclure que la liste précédente donne un aperçu approximativement complet des micro-organismes qui, en général, peuvent être entraînés avec les poussières de l'air dans le moût de bière et s'y développer. En parcourant cette liste, on voit que toutes les formes observées dans les 5 derniers endroits ont aussi été trouvées dans le jardin, à l'exception du Sacch. glutinis et du Sarcina. Ceux-ci n'ont en effet été recueillis que dans la cave A de la brasserie N. Parmi les bactéries, les Spirilles et les Spirochètes ont toujours fait défaut, comme dans les recherches de M. Miflet. Les formes dont la présence n'a été constatée que dans l'air du jardin sont: l'Aspergillus fumigatus, le Mucor racemosus, le Mucor stolonifer, le Botrytis cinerea, l'Oidium lactis, les trois espèces appartenant aux genres Monilia, Dendrodochium et Arthrobotrys, les cellules ressemblant au Chalara, les cellules colorées en rouge ressemblant à des Saccharomyces (voir 2e livraison vol. I, Pl. II, Fig. 1—37 et 38—41), le Sacch. exiguus, le Sacch. apiculatus, le Bacillus ruber, le Bacterium Kochii, le Bact. pyriforme et le Bact. Carlsbergense.

Après avoir ainsi surtout fait connaître les résultats de mes analyses de l'air sous la treille et sous les cerisiers, je passerai maintenant à ceux qu'ont donnés mes recherches sur les vapeurs de la drèche. On trouve dans la drèche même un grand nombre de bactéries, en partie des formes comme le Bacillus subtilis, le Mycoderma aceti et les microbactéries, en partie des micrococques, aussi sous la forme de Torula. Ces organismes produisent des fermentations acides qui sont faciles à reconnaître à l'odeur. Si les bactéries pouvaient être entraînées dans l'air avec les vapeurs, la drèche dans les cours des brasseries serait très dangereuse; il est donc naturel qu'on la considère avec quelque méfiance. M. Kogsbølle avait déjà, en 1878, comme il a été dit plus haut, appelé mon attention sur l'importance de cette question, et j'ai, la même année, fait dans ce sens quelques recherches qui, pendant les deux années suivantes, du 11 juin 1879 au 1er mai 1880, ont été poursuivies sur une plus grande échelle avec des ballons vides d'air. Pour faciliter la comparaison, les chiffres ci-après ne sont calculés que pour les analyses faites du 25 juillet 1879 au 1er mai 1880, période pendant laquelle des recherches analogues ont été entreprises dans le jardin; mais le résultat général ne varie pas même en tenant compte de la période du 11 juin au 25 juillet 1879. On a trouvé infectés 30,1 % des ballons ouverts dans les vapeurs de la drèche, et constaté la présence de ferments alcooliques du genre Saccharomyces dans 12 % des ballons infectés et 3,6 % des ballons ouverts. Les bactéries ont été observées dans 8 % des ballons infectés et 2,4 % des ballons ouverts. Les analyses parallèles de l'air dans le jardin montrent que 44,4 % des ballons ouverts étaient infectés et qu'aucun d'eux ne renfermait des ferments alcooliques; il y avait des bactéries dans 8,5 % des ballons infectés et dans 3,7 % des ballons ouverts. Il résulte de ces chiffres que les vapeurs de la drêche ont infecté moins de ballons que l'air dans le jardin, et que les bactéries, en tout cas, n'étaient pas

plus abondantes dans ces vapeurs qu'à l'air libre. Il faut en outre se rappeler que quelque infection peut bien provenir des habits des ouvriers qui chargeaient ou déchargeaient les voitures de drèche. Comme c'est en général le cas, l'infection produite par les moisissures était la plus forte. Quant à la légère infection provenant des ferments alcooliques, j'ai lieu de croire qu'elle est due à des poussières de la cour de la brasserie, où la levûre, quand on en remplit de petits barils pour l'expédier, a quelquefois l'occasion de se dessécher. Les organismes observés étaient, je l'ai dit, les mêmes que ceux du jardin. Tout bien considéré, on arrive à cette conclusion probable qu'il y a à peine un seul des organismes recueillis dans les ballons qui provienne de la drèche elle-même; sa grande richesse en bactéries ne s'est en tout cas pas manifestée, et c'est là le point essentiel. Ces recherches sont donc en désaccord avec les doctrines émises par MM. Soyka et Pettenkofer, et confirment l'opinion de MM. Nägeli et Miquel.

Dans ses recherches sur le passage des bactéries dans l'atmosphère[1]), qui ont été faites à l'institut hygiènique de M. Pettenkofer, M. Soyka fait en effet observer qu'il n'est besoin que de très petites forces pour mettre en mouvement des corps aussi ténus que les bactéries, et que les courants d'air qui règnent par un temps en apparance calme suffisent même pour cela. Il arrive par suite à ce résultat, que les organismes en question tourbillonnent constamment en masse dans notre atmosphère, et qu'ils sont enlevés aussi bien des surfaces sèches que des surfaces humides qui sont le siège d'une évaporation. M. Nägeli combat cette théorie dans un long mémoire[2]), où il examine les lois du mouvement des plus petits corps. M. Miquel[3]), de son côté, s'élève aussi avec force contre l'erreur qui s'est glissée peu à peu dans la science, que les bactéries pourraient abandonner le sol humide dans lequel elles se trouvent avant qu'il soit complètement desséché, et il établit que les vapeurs qui s'élèvent des liquides les plus impurs ou d'un sol sale et humide, dans les mêmes conditions, ne renferment jamais de germes.

Il est évident que la drèche doit être très dangereuse quand elle se dessèche assez pour que, sous l'action du vent, elle puisse envoyer dans l'air des nuages de poussière; mais heureusement elle ne reste en général pas si longtemps dans les cours des brasseries. Comme essai, j'en fis, au mois d'août 1881, par un temps sec d'été, laisser sur place, durant 24 heures, un tas qui resta, pendant le jour, exposé au soleil et à un vent léger. Le tas fut formé dans l'après-midi et le lendemain, à la même heure, je procedai aux recherches. La couche supérieure extrême était seule desséchée, et il ne semblait pas qu'il pût s'en dégager des poussières dans une proportion sensible. Une dixaine de ballons

---

1) Soyka, Ueber den Uebergang von Spaltpilzen in die Luft. (Sitzungsberichte der math.-phys. Classe der Akademie der Wissenschaften zu München. B. IX, 1879. p. 140).

2) Nägeli, Ueber die Bewegungen kleinster Körperchen (l. c. p. 389).

3) Miquel, Étude générale sur les bactéries de l'atmosphère. (Extrait de l'annuaire de Montsouris pour l'année 1881).



vides d'air furent ouverts dans des conditions telles qu'ils devaient nécessairement aspirer les poussières, au cas que la surface de la drêche fût réellement en état d'en émettre. Mais cette expérience eut pour résultat que pas un seul ballon ne renfermait des bactéries ni des Saccharomyces, tandis que je trouvai dans plusieurs une moisissure de la même espèce que dans l'air environnant, à savoir le Cladosporium herbarum; or cette moisissure, comme d'autres expériences l'ont établi, n'aurait pu empêcher les bactéries qui s'y seraient introduites avec elle de se développer. Il s'ensuit que, pour devenir dangereuse, la drêche doit rester exposée dans les cours des brasseries beaucoup plus longtemps qu'elle ne le fait d'habitude et s'y dessécher en couches minces. Si ces conditions ne sont pas remplies, il n'y a donc pas lieu de s'en préoccuper.

Parmi les autres points examinés, celui qui invite surtout à une comparaison avec les analyses du jardin, c'est le corridor. Il reçoit beaucoup de poussières de l'orge qui se déverse dans un local contigu, et c'est ce que les analyses montrent aussi clairement. L'air y était en effet non seulement beaucoup plus riche en organismes que dans le jardin, mais c'était un des endroits où l'infection était la plus grande, et qui se distinguait surtout par sa richesse en bactéries. Le Penicillium glaucum y était aussi plus abondant que dans l'air du jardin.

En comparant ces résultats avec les analyses de la cave du maltage, on voit que toutes les formes observées dans le corridor, à l'exception du Penicillium cladosporioides, s'y sont montrées également mais en quantité un peu plus petite, diminution qui doit sans doute être attribuée au bain de pluie et au filtre à coke, bien qu'ils n'aient pas complètement rempli leur but (le filtre a plus tard été remplacé par un autre). Ce qui caractérise surtout la cave du maltage, c'est l'abondante végétation de moisissures, laquelle est due principalement à une forme très rare dans tous les autres endroits, à savoir l'Aspergillus glaucus. Il a été observé avec une fructification développée dans 25⁰/₀ des ballons ouverts, et il est possible qu'une partie du mycélium indéterminé qu'on a constamment trouvé dans plusieurs, appartienne aussi à cette espèce. L'Aspergillus glaucus doit donc être considéré comme provenant de la cave même du maltage, et l'on pourrait être tout porté à supposer que ses conidies ou spores en suspension dans l'air devaient leur origine à des grains d'orge moisis disséminés çá et là. Tel a peut-être aussi été le cas, mais je dois cependant ajouter qu'en examinant plus tard, à différentes époques, la végétation des moisissures dans la même cave, j'y ai rencontré très rarement l'espèce en question, mais toujours par contre une abondante végétation de Penicillium glaucum. Comme il fallait s'y attendre, l'air de cette cave n'était pas aussi riche que celui du jardin en formes telles que le Cladosporium herbarum et le Dematium pullulans, qui vivent principalement en plein air sur les feuilles et autres parties des végétaux. Les Saccharomyces n'ont été observés ni dans le corridor ni dans la cave du maltage.

En opposition à tous les autres endroits examinés, c'est par sa richesse en cellules appartenant à ce genre (Sacch. cerevisiæ et espèces spontanées) que se distingue l'air des caves de fermentation de la brasserie N. Le Penicillium glaucum et les bactéries y étaient aussi un peu

plus abondantes que dans l'air du jardin. Parmi les trois caves A, E et I, I était un peu plus riche que les deux autres en bactéries et en Saccharomyces; E se faisait remarquer par l'absence du Sacch. Pastorianus; A, comme il a été dit plus haut, renfermait deux espèces qui ne se trouvaient pas dans les autres, le Sacch. glutinis et le Sarcina. mais l'une et l'autre en petite quantité. I était donc la cave la plus riche en bactéries, puis venaient A et enfin E.

L'air de la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg se distinguait par sa pauvreté en organismes; de tous les endroits examinés, c'est celui où l'air était le plus pur.

Le tableau ci-dessous indique le nombre pour cent des ballons ouverts qui ont été infectés en chaque endroit:

I.	Cave de fermentation basse du vieux Carlsberg...	22 %
II.	Vapeurs de la drèche........................	31 -
III.	Treille....................................	50 -
IV.	Cerisiers	57 -
V.	Cave E de la brasserie N	70 -
VI.	— A —	83 -
VII.	— I —	100 -
VIII.	Cave du maltage	100 -
IX.	Corridor	100 -

Ces calculs sont basés sur toutes les analyses faites en 1879 et en 1880. Mais les circonstances n'ont pas permis d'entreprendre en même temps et sans interruption des recherches sur tous les points. Les deux dernières séries d'expériences, la 50e et la 51e, se prêtent le mieux à une comparaison, comme elles comprennent des analyses similaires faites en même temps de l'air de tous les points observés, excepté cependant les vapeurs de la drèche. Elles présentent l'échelle suivante:

I.	Cerisiers	10 %
II.	Cave de fermentation basse du vieux Carlsberg ..	15 -
III.	Treille....................................	40 -
IV.	Cave A de la brasserie N	55 -
V.	— E —	75 -
VI.	— I —	100 -
VII.	Cave du maltage............................	100 -
VIII.	Corridor	100 -

Si l'on réunit les nombres de la treille et des cerisiers afin d'avoir une expression commune pour l'air du jardin, la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg passe de nouveau au premier rang, et les deux tableaux s'accordent dans leurs traits principaux.

Il faut en outre remarquer que cette cave est le seul endroit où chacun des ballons infectés n'ait renfermé qu'une seule espèce. Les analyses relatives aux autres endroits examinés nous apprennent que, dans un petit nombre de cas, on a trouvé deux, et très rarement trois à quatre espèces dans chacun des ballons infectés. Sous ce rapport, on

voit encore que le jardin se rapproche le plus de la cave de fermentation du vieux Carlsberg, puis viennent la cave du maltage, les vapeurs de la drêche, les caves de la brasserie N et enfin le corridor.

Si plusieurs organismes pénètrent dans un ballon, c'est une preuve que, dans le volume d'air aspiré, il y avait au moins autant de germes qu'il s'est ensuite developpé d'espèces differentes. Un ballon n'est-il au contraire infecté que par une seule espèce, cela signifie que le volume d'air aspiré renfermait seulement un germe unique, ou, ce qui est encore possible, plusieurs germes appartenant à la même espèce. Il est très rare qu'on puisse établir avec certitude comment les choses se passent en réalité. Cela peut cependant se faire dans certaines circonstances, du moins avec un haut degré de probabilité. Supposons qu'un ballon n'a absorbé qu'une seule espèce, le Sacch. cerevisiæ par ex. Nous l'observons tous les jours avec soin et guettons le moment où il sera possible de constater à l'œil nu la multiplication de la levûre. Si celle-ci se montre sous forme d'une petite tache unique et qu'il ne s'en produise pas d'autres dans le liquide, avant que la fermentation entre en activité et ait rendu cette sorte de recherche impossible, il y a tout lieu de supposer que cette tache provient d'une seule cellule ou d'une colonie de cellules unies entre elles, et représentant alors aussi un seul germe. Se forme-t-il au contraire dans le ballon plusieurs de ces petits centres de végétation, on ne saurait dire s'ils proviennent d'un ou de plusieurs germes. En effet, il n'y a guère pas de probalité que plusieurs germes isolés se réunissent pour former un seul centre de végétation, tandis qu'il est fort possible qu'une cellule unique, en se multipliant, donne d'abord naissance à une colonie si petite qu'elle échappe à la vue, et que ses éléments, en étant mis en mouvement dans le liquide, se séparent ensuite les uns des autres et arrivent ainsi à fonder de nouveaux centres de végétation. Dans ces considérations j'ai naturellement toujours eu en vue des germes vivants et capables de se multiplier, et si j'ai pris pour exemple le Sacch. cerevisiæ, c'est que cet organisme a été employé dans certaines de mes expériences qui étaient basées sur les observations précédentes. Elles s'appliquent du reste également à d'autres espèces. Considérons-nous ainsi nos ballons infectés, dont la plupart renferment une, et un petit nombre, plusieurs espèces, et nous demandons-nous quels éclaircissements on peut en tirer sur les quantités relatives des germes qui se trouvaient dans l'air au milieu duquel ils ont été ouverts, nous voyons par ce qui précède que nous avons au plus une raison probable de supposer que l'air le plus chargé de germes correspond aux ballons renfermant le plus grand nombre d'espèces. Cependant cette supposition trouve une confirmation dans la circonstance que le corridor, c'est-à-dire l'endroit qui, même à l'œil nu, était le plus riche en poussières, non seulement a toujours infecté 100 % des ballons ouverts, mais en même temps a fourni la plus forte proportion des ballons qui renfermaient deux ou plusieurs espèces. Il faut en général un certain discernement pour tirer de ces recherches des conclusions justes, car nous sommes loin encore d'être assez avancés dans ce domaine pour pouvoir transformer les problèmes à résoudre en simples calculs avec des facteurs connus.

On se rappelle que les micro-organismes que nous avons observés ont été rapportés à trois groupes: les moisissures, les Saccharomyces et les bactéries. Le premier groupe s'est surtout montré dans la cave du maltage, dans les caves I et A de la brasserie N et dans le corridor. Les Saccharomyces étaient le plus abondants dans les caves de fermentation basse de la brasserie N. Quant aux bactéries, c'est dans le corridor qu'elles ont infecté le nombre de ballons relativement le plus grand; puis viennent les caves de la brasserie N et la cave du maltage, et enfin le jardin, les vapeurs de la drêche et la cave de fermentation basse du vieux Carlsberg.

La cause du remarquable degré de pureté par lequel l'air de cette dernière cave se distingue, doit en partie être cherchée dans l'ordre rigoureux qui y règne, mais plus encore dans la circonstance que des machines à produire du froid y entretiennent un courant d'air froid, qui est en outre soumis à une épuration spéciale dans un bain de pluie saturé de chlorure de sodium. Qu'une pareille amélioration doive avoir une grande importance pour l'exploitation rationnelle d'une brasserie, cela n'a pas besoin d'autre explication. La cave de fermentation basse du vieux Carlsberg occupe aussi une place tout exceptionnelle par rapport aux autres caves que j'ai eu l'occasion d'examiner. Les analyses relatives à celles de la brasserie N donnent, je suppose, une idée du monde de micro-organismes que renferme en général de l'air des caves de fermentation basse. Les recherches peu nombreuses que j'ai faites à cet égard dans la brasserie M ont donné des résultats analogues, avec cette différence toutefois que je n'y ai pas observé des levûres spontanées. Autant que je sache, Carlsberg est la première brasserie où l'on ait entrepris des recherches de ce genre. Mais il ne serait pas sans intérêt pour la technique de la fermentation qu'on procédât à des analyses analogues dans des brasseries autres que celles dont il a été question ici, afin de pouvoir établir des comparaisons.

Parmi les organismes mentionnés plus haut, il y en a plusieurs sur lesquels j'aurai ici l'occasion de communiquer quelques renseignements.

J'ai fait observer dans la note, p. 205. que le Dematium pullulans appartient aux espèces incomplètement connues; nous manquons notamment de caractères certains par lesquels nous puissions distinguer les différentes formes de son développement de formes analogues, mais appartenant à d'autres espèces. Mes observations m'ont amené à conclure qu'il se cache plus d'une espèce sous ce nom systématique; mais jusqu'à ce qu'on ait obtenu des résultats plus complets, il vaut mieux sans doute ne pas introduire de nouvelles dénominations. Les cellules ressemblant à des Saccharomyces que j'ai recueillies, en novembre 1880, dans l'air de la cave du maltage et de la cave I, se rapprochaient des formes correspondantes chez le Dematium pullulans type, et développaient un mycélium incolore comme celui qu'on trouve chez ce dernier; mais dans les circonstances où il se produisait chez le Dematium pullulans du mycélium brun verdâtre, les cellules dont il s'agit n'en présentaient pas trace, bien qu'on les eût cultivées pendant quelque temps, en partie dans du moût de bière, en partie dans de la saccharose. Après qu'il a été établi par les recherches de M. Gayon et les miennes que le pouvoir inversif peut faire défaut chez des champignons qui provoquent la fermentation alcoolique, les études physiologiques sur les formes qui vivent et se développent dans le moût de bière doivent avoir pour objet non seulement, comme jusqu'ici, ce second mode d'activité fermentative mais aussi le premier. Les recherches suivantes montrent que la nature présente sous ce rapport des combinaisons bien nombreuses, et que le pouvoir inversif, quoique très commun, n'est cependant pas aussi répandu qu'on le supposait auparavant. J'ai trouvé que les formes types du Dematium pullulans intervertissent la saccharose, et que les champignons, ressemblant au Dematium, qui provenaient de la cave du maltage et de la cave I jouissaient de la même propriété. Ces champignons différaient cependant un peu entre eux au point de vue physiologique, car tandis que la forme de la cave I, cultivée dans la moût de bière, a produit $^3/_8$ de vol. $^0/_0$ d'alcool environ, on n'a pu avec l'autre, dans les mêmes circonstances, constater avec certitude aucune production de ce genre. Il n'y a eu dans aucun cas formation d'écume. Les cellules indeterminées, ressemblant à des Saccharomyces, qui figurent si souvent dans mes analyses, appartiennent sans doute en général à l'un des champignons ci-dessus mentionnés.

En ce qui concerne la diffusion de l'Oidium lactis, j'ai entrepris dans les dernières années des recherches dont voici les résultats principaux. On a dit de cet organisme qu'il croît en général sur des excréments; dans mes études précédentes[1]), j'ai prouvé que cette assertion n'est pas tout à fait exacte. Les conidies de l'Oidium lactis se rencontrent, il est vrai, assez souvent dans les excréments, notamment sur ceux de la vache, mais elles n'y produisent aucune végétation ou n'en donnent qu'une relativement faible, comparée à celle qui se développe sur le lait, le

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Oidium lactis (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Vol. I, 1879, Résumé français p. 75).

moût et autres infusions végétales. Les excréments ne peuvent donc être considérés comme constituant un bon milieu nutritif pour cette espèce. Je l'ai trouvée habituellement, pendant toute l'année, et toujours sous la forme ordinaire de conidies, vivant dans la terre, aussi bien sous les arbres fruitiers que sous d'autres plantes, dans le jardin, les bois et les champs, et me suis assuré par des expériences directes qu'elle appartient aus formes qui peuvent hiverner dans la terre. Mes analyses montrent qu'elle n'est pas commune dans les poussières de l'air; c'est ce que j'ai constaté en exposant aussi bien du lait stérilisé que du moût à l'action directe de l'air. A différentes époques, j'ai également entrepris de nombreuses expériences avec des fruits mûrs (cerises, fraises, framboises, groseilles à maquereau et prunes du jardin de Carlsberg, et raisins des Vosges), mais je ne l'y ai rencontrée que très rarement et encore n'y avait-il que quelques conidies. Le lait est le substratum où l'on est presque sûr de ne jamais chercher en vain cet organisme, mais la question de savoir comment il y est apporté n'a pas encore été éclaircie.

Le Chalara Mycoderma appartient, comme le précédent, aux espèces certainement nombreuses qui se trouvent toute l'année dans la terre; on le rencontre aussi habituellement dans les excréments. Je ne l'ai jamais observé dans les analyses de l'air, du moins en ce qui concerne la forme type[1]). Outre celle-ci, il y a en effet plusieurs autres qui s'en rapprochent à un certain degré, mais appartiennent sans doute à des espèces différentes. Un de mes ballons vides d'air, ouvert en novembre 1880 sous la treille, renfermait un précipité pâteux et jaune grisâtre, composé de cellules ressemblant à des Saccharomyces, ovales, sphériques et en forme de boudin, dont l'aspect, surtout quand on considérait leurs colonies, dont les éléments étaient encore unis entre eux, rappelait les dessins, Fig. 37—39, que M. Cienkowski a donnés du Chalara Mycoderma. Mais elles étaient remplies d'un protoplasma homogène sans vacuoles bien marquées, et, après avoir été cultivées, n'ont pas développé les cellules allongées ni les ramifications, ressemblant à du mycélium, qu'on trouve chez l'espèce dont il s'agit; elles ne peuvent par conséquent y être rapportées. Dans le moût, elles se son multipliées par bourgeonnement et ont produit jusqu'à $^1/_2$ vol. $^0/_0$ d'alcool, mais sans formation d'écume. Elles ont en peu de temps interverti les dissolutions de saccharose, et le liquide accusait ensuite nettement la réaction de l'iodoforme et le caractère de larmes indiqué par M. Pasteur; quant au développement d'écume, on l'a tout aussi peu observé que dans les cas précédents.

Dans son livre souvent cité, M. Pasteur a représenté Pl. III deux espèces de petites cellules rondes et ressemblant à des Saccharomyces, qu'il appelle Torula et est disposé à regarder comme des formes du Sacch. Mycoderma. De leurs propriétés physiologiques, il se borne à

---

1) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut (Bullet. de l'Acad. d St. Pétersbourg, T. XVII, 1873. p. 566—89. Pl. II, Fig. 37—60). — Emil Chr. Hansen, Chalara Mycoderma (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Vol. I, 1879, Résumé français, p. 72. Pl. I. Fig. 20—28).



dire qu'elles produisent de si petites quantités d'alcool dans un liquide nourricier fermentescible, qu'à proprement parler on ne saurait les ranger parmi les ferments alcooliques. Elles ont de temps à autre été observées dans mes analyses de l'air, tant dans les locaux de la brasserie que dans le jardin. Pendant que ces analyses étaient en train, le temps m'a manqué pour soumettre ces organismes à une étude plus approfondie, et c'est pourquoi je les ai tous désignés sous la dénomination commune de Torula de M. Pasteur. Des expériences ultérieures m'ont fait voir que ce nom désigne au moins trois espèces distinctes, dont l'une a le même aspect que la forme la plus petite représentée par M. Pasteur sur la Pl. III, et les deux autres ressemblent à la grande; nous appellerons provisoirement ces deux dernières les Torula 2 et 3 de M. Pasteur et la première le Torula 1. Dans les différents essais de culture que j'ai entrepris, elles ont conservé chacune leur caractère particulier. Elles ne se multipliaient que par bourgeonnement, ne développaient ni mycélium ni ascospores et ne manifestaient non plus aucune tendance à former des membranes comme le Sacch. Mycoderma. J'ai de plus constaté qu'en opposition à la plupart des formes voisines, elles ne produisent pas d'invertine. Ce sont sans doute surtout les Torula 1 et 2 que M. Pasteur a eu en vue, car ils ne produisent pas d'alcool dans le moût et les dissolutions de sucre, ou n'en donnent que des quantités à peine sensibles et sans écume. Par contre, le n° 3, après un assez long séjour dans le moût, a donné $^7/_8$ de vol. $^0/_0$ d'alcool avec un peu d'écume; les analyses ont aussi montré qu'il y a eu dans ce cas un dégagement d'acide carbonique. Je puis encore ajouter que, sur des raisins mûrs cueillis dans les Vosges pendant la vendange, j'ai assez souvent trouvé des cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces et qui, de même que les Torula 2 et 3, étaient voisines de la grande forme représentée sur la Pl. III de M. Pasteur; mais, au point de vue physiologique, elles différaient essentiellement des trois espèces précédentes en ce qu'elles intervertissaient la saccharose, et produisaient dans le moût et les dissolutious sucrées une fermentation alcoolique assez active (un peu plus de 1 vol. $^0/_0$), accompagnée de beaucoup d'écume. D'un autre côté, elles ne donnaient naissance, comme les trois éspèces précédentes, ni à des ascospores, ni à du mycélium, ni à des membranes. Nous nous trouvons donc de nouveau, dans ce groupe, en face d'espèces que nous ne sommes pas, pour le moment, en état de séparer par des recherches morphologiques, quoiqu'elles nous présentent des différences physiologiques bien tranchées.

Comme on le voit par les analyses, le Sacch. Pastorianus joue une rôle important dans les caves A et I. Sous ce nom systématique, je désigne un ferment alcoolique qui ressemble aux figures que M. Pasteur a publiées de l'espèce en question et de sa «levûre caséeuse». Mais si l'on tient compte de ses particularités physiologiques, il semble que ce doive être une des formes que M. Pasteur, dans ses études sur la bière et ses maladies, a appelées du premier de ces noms. On ne saurait toutefois se prononcer a cet égard avec quelque certitude, vu l'obscurité qui règne encore dans ce domaine. Ainsi il est également douteux que MM. Reess, Engel et Pasteur, sous le nom systématique de Sacch. Pastorianus, désignent la même espèce. Notre ferment alcoolique, que nous

appelons donc Sacch. Pastorianus, s'est montré dans les poussières de l'air, dans le jardin, pendant les mois de juillet, d'août et de septembre, mais seulement par exception aux autres époques de l'année. Dans les caves A et I, il a été observé en juin, juillet, septembre, octobre et novembre, et il est probable que, si j'avais pu y poursuivre mes recherches pendant toute l'année comme dans le jardin. je l'y aurais trouvé dans tous les temps, bien qu'en moindre quantité dans les mois les plus froids. Aux expériences dont cette espèce a été l'objet au laboratoire de Carlsberg, dans le cours des dernières années, appartiennent aussi les essais de brassage en grand pratiqués dans les cuves à fermentation de M. Pasteur avec du moût de bière comme liquide nourricier. Ces brassages, qui ont été répétés plusieurs fois, ont donné chacun 150 litres de bière environ, et celle-ci, après avoir été mise en barils, est resté 3 mois dans la cave de garde comme la bière ordinaire destinée à la vente. Comme comparaison, on a fait des brassages analogues avec la forme de fermentation basse du Sacch. cerevisiæ de la brasserie. La bière ainsi fabriquée avec le Sacch. Pastorianus avait toujours une odeur particulière et un goût amer désagréable, par où elle se distinguait nettement non seulement de la bière brassée avec le Sacch. cerevisiæ dans les cuves à fermentation de M. Pasteur, mais aussi de la bière de garde de la brasserie. Abandonnée à elle-même après sa mise en bouteilles, elle laissait généralement déposer un précipité de levain, qui, par l'agitation, rendait trouble le liquide d'ailleurs clair. J'ai lieu de croire que ce grave inconvénient, qui, dans les dernières années, a été assez général dans les brasseries du Danemark et surtout dans celles de l'Allemagne, est dû, au moins dans beaucoup de cas, à cette levûre. En tout cas, il appartient aux hôtes suspects d'une brasserie, et s'il trouve l'occasion de se multiplier dans les cuves à fermentation, de manière qu'il arrive peu à peu à constituer une portion notable du levain employé, il communiquera aussi à la bière un déboire. Le danger que présente le Sacc. Pastorianus est encore augmenté par la circonstance qu'il donne facilement naissance à des ascospores, et qu'il est doué d'un pouvoir fermentatif très énergique, car il produit une bière aussi riche en alcool que celle faite avec la levûre de la brasserie. J'ai quelquefois eu l'occasion d'observer comment il se propageait dans le levain d'une brasserie, et ce dernier finissait par renfermer moitié environ des cellules de cette espèce. La dégénérescence du levain dont on se plaint dans certaines brasseries trouve souvent dans ce fait son explication. Il est vraisemblable que les levûres spontanées provoquent de temps à autre dans l'industrie de la fermentation des troubles aussi grands que les bactéries, mais l'attention ne s'est encore guère portée sur ce point. Mes recherches sur le Sacch. Pastorianus et sur la »levûre caséeuse« très problématique de M. Pasteur ne sont pas encore complètement terminées; elles seront communiquées plus tard dans un autre mémoire,

Le bacille rouge qui, en novembre 1878, a été recueilli en plein air, au jardin, s'est également montré dans un des ballons qui, en décembre 1879, ont été ouverts sous la treille, et dans un des flacons exposés sous les cerisiers en juillet 1880. Il appartient aux formes qui

sont très rares dans les poussières de l'air. MM. Cohn et Frank ont désigné cette forme ou du moins une autre analogue sous le nom de Bacillus ruber. L'espèce est très imparfaitement connue.

C'est la même difficulté que nous rencontrons partout où il est question des micro-organismes de l'air; nous sommes toujours arrêtés par notre connaissance incomplète des espèces et de leur délimitation. Aussi y a-t-il beaucoup de questions qui restent plus ou moins obscures. Nous arrivons seulement à fixer certains traits principaux; ces résultats paient cependant le travail, car ils nous donnent, dans plus d'une direction, des éclaircissements qui ont de la valeur aussi bien pour la théorie que pour la pratique. Mais des progrès plus considérables ne pourront être réalisés que lorsque les espèces auront été étudiées plus à fond, notamment au point de vue de leur morphologie et de leur évolution. C'est de travaux préliminaires semblables que la physiologie de la fermentation et la doctrine des maladies contagieuses ont également besoin pour pouvoir arriver à établir des points de départ bien certains.

Table des matières du tome premier.

Première livraison, 1878.

Pag.

Laboratoire de Carlsberg 1
Fonds de Carlsberg 4
Status du fonds de Carlsberg 6

Sur le pouvoir rotatoire que le moût de bière exerce sur la lumière polarisée, et sur ses variations pendant la fermentation. Par J. Kjeldahl 12
Dosage de l'extrait. Par J. Kjeldahl 15
Dosage de l'alcool dans la bière. Par J. Kjeldahl 17
Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la levûre basse du Saccharomyces cerevisiæ. Par R. Pedersen 22
Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation. Par R. Pedersen 38
Recherches sur l'influence de la température sur la production de l'acide carbonique par l'orge germée dans l'obscurité. Par R. Pedersen 44

Deuxième livraison, 1879.

Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre. Avec deux planches. Par Emil Chr. Hansen .... 49—75
1. Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de biére . 49
2. Sur les membranes 67
3. Organismes observés par l'auteur dans la bière et dans le moût 72

Oidium lactis Fres 75
Saccharomyces colorés en rouge et cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces 81
Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation 88

dire qu'elles produisent de si petites quantités d'alcool dans un liquide nourricier fermentescible, qu'à proprement parler on ne saurait les ranger parmi les ferments alcooliques. Elles ont de temps à autre été observées dans mes analyses de l'air, tant dans les locaux de la brasserie que dans le jardin. Pendant que ces analyses étaient en train, le temps m'a manqué pour soumettre ces organismes à une étude plus approfondie, et c'est pourquoi je les ai tous désignés sous la dénomination commune de Torula de M. Pasteur. Des expériences ultérieures m'ont fait voir que ce nom désigne au moins trois espèces distinctes, dont l'une a le même aspect que la forme la plus petite représentée par M. Pasteur sur la Pl. III, et les deux autres ressemblent à la grande; nous appellerons provisoirement ces deux dernières les Torula 2 et 3 de M. Pasteur et la première le Torula 1. Dans les différents essais de culture que j'ai entrepris, elles ont conservé chacune leur caractère particulier. Elles ne se multipliaient que par bourgeonnement, ne développaient ni mycélium ni ascospores et ne manifestaient non plus aucune tendance à former des membranes comme le Sacch. Mycoderma. J'ai de plus constaté qu'en opposition à la plupart des formes voisines, elles ne produisent pas d'invertine. Ce sont sans doute surtout les Torula 1 et 2 que M. Pasteur a eu en vue, car ils ne produisent pas d'alcool dans le moût et les dissolutions de sucre, ou n'en donnent que des quantités à peine sensibles et sans écume. Par contre, le n° 3, après un assez long séjour dans le moût, a donné $^7/_8$ de vol. $^0/_0$ d'alcool avec un peu d'écume; les analyses ont aussi montré qu'il y a eu dans ce cas un dégagement d'acide carbonique. Je puis encore ajouter que, sur des raisins mûrs cueillis dans les Vosges pendant la vendange, j'ai assez souvent trouvé des cellules rondes ressemblant à des Saccharomyces et qui, de même que les Torula 2 et 3, étaient voisines de la grande forme représentée sur la Pl. III de M. Pasteur; mais, au point de vue physiologique, elles différaient essentiellement des trois espèces précédentes en ce qu'elles intervertissaient la saccharose, et produisaient dans le moût et les dissolutious sucrées une fermentation alcoolique assez active (un peu plus de 1 vol. $^0/_0$), accompagnée de beaucoup d'écume. D'un autre côté, elles ne donnaient naissance, comme les trois éspèces précédentes, ni à des ascospores, ni à du mycélium, ni à des membranes. Nous nous trouvons donc de nouveau, dans ce groupe, en face d'espèces que nous ne sommes pas, pour le moment, en état de séparer par des recherches morphologiques, quoiqu'elles nous présentent des différences physiologiques bien tranchées.

Comme on le voit par les analyses, le Sacch. Pastorianus joue une rôle important dans les caves A et I. Sous ce nom systématique, je désigne un ferment alcoolique qui ressemble aux figures que M. Pasteur a publiées de l'espèce en question et de sa «levûre caséeuse«. Mais si l'on tient compte de ses particularités physiologiques, il semble que ce doive être une des formes que M. Pasteur, dans ses études sur la bière et ses maladies, a appelées du premier de ces noms. On ne saurait toutefois se prononcer a cet égard avec quelque certitude, vu l'obscurité qui règne encore dans ce domaine. Ainsi il est également douteux que MM. Reess, Engel et Pasteur, sous le nom systématique de Sacch. Pastorianus, désignent la même espèce. Notre ferment alcoolique, que nous

appelons donc Sacch. Pastorianus, s'est montré dans les poussières de l'air, dans le jardin, pendant les mois de juillet, d'août et de septembre, mais seulement par exception aux autres époques de l'année. Dans les caves A et I, il a été observé en juin, juillet, septembre, octobre et novembre, et il est probable que, si j'avais pu y poursuivre mes recherches pendant toute l'année comme dans le jardin, je l'y aurais trouvé dans tous les temps, bien qu'en moindre quantité dans les mois les plus froids. Aux expériences dont cette espèce a été l'objet au laboratoire de Carlsberg, dans le cours des dernières années, appartiennent aussi les essais de brassage en grand pratiqués dans les cuves à fermentation de M. Pasteur avec du moût de bière comme liquide nourricier. Ces brassages, qui ont été répétés plusieurs fois, ont donné chacun 150 litres de bière environ, et celle-ci, après avoir été mise en barils, est resté 3 mois dans la cave de garde comme la bière ordinaire destinée à la vente. Comme comparaison, on a fait des brassages analogues avec la forme de fermentation basse du Sacch. cerevisiæ de la brasserie. La bière ainsi fabriquée avec le Sacch. Pastorianus avait toujours une odeur particulière et un goût amer désagréable, par oú elle se distinguait nettement non seulement de la bière brassée avec le Sacch. cerevisiæ dans les cuves à fermentation de M. Pasteur, mais aussi de la bière de garde de la brasserie. Abandonnée à elle-même après sa mise en bouteilles, elle laissait généralement déposer un précipité de levain, qui, par l'agitation, rendait trouble le liquide d'ailleurs clair. J'ai lieu de croire que ce grave inconvénient, qui, dans les dernières années, a été assez général dans les brasseries du Danemark et surtout dans celles de l'Allemagne, est dû, au moins dans beaucoup de cas, à cette levûre. En tout cas, il appartient aux hôtes suspects d'une brasserie, et s'il trouve l'occasion de se multiplier dans les cuves à fermentation, de manière qu'il arrive peu à peu à constituer une portion notable du levain employé, il communiquera aussi à la bière un déboire. Le danger que présente le Sacc. Pastorianus est encore augmenté par la circonstance qu'il donne facilement naissance à des ascospores, et qu'il est doué d'un pouvoir fermentatif très énergique, car il produit une bière aussi riche en alcool que celle faite avec la levûre de la brasserie. J'ai quelquefois eu l'occasion d'observer comment il se propageait dans le levain d'une brasserie, et ce dernier finissait par renfermer moitié environ des cellules de cette espèce. La dégénérescence du levain dont on se plaint dans certaines brasseries trouve souvent dans ce fait son explication. Il est vraisemblable que les levûres spontanées provoquent de temps à autre dans l'industrie de la fermentation des troubles aussi grands que les bactéries, mais l'attention ne s'est encore guère portée sur ce point. Mes recherches sur le Sacch. Pastorianus et sur la »levûre caséeuse« très problématique de M. Pasteur ne sont pas encore complètement terminées; elles seront communiquées plus tard dans un autre mémoire,

Le bacille rouge qui, en novembre 1878, a été recueilli en plein air, au jardin, s'est également montré dans un des ballons qui, en décembre 1879, ont été ouverts sous la treille, et dans un des flacons exposés sous les cerisiers en juillet 1880. Il appartient aux formes qui

sont très rares dans les poussières de l'air. MM. Cohn et Frank ont désigné cette forme ou du moins une autre analogue sous le nom de Bacillus ruber. L'espèce est très imparfaitement connue.

C'est la même difficulté que nous rencontrons partout où il est question des micro-organismes de l'air; nous sommes toujours arrêtés par notre connaissance incomplète des espèces et de leur délimitation. Aussi y a-t-il beaucoup de questions qui restent plus ou moins obscures. Nous arrivons seulement à fixer certains traits principaux; ces résultats paient cependant le travail, car ils nous donnent, dans plus d'une direction, des éclaircissements qui ont de la valeur aussi bien pour la théorie que pour la pratique. Mais des progrès plus considérables ne pourront être réalisés que lorsque les espèces auront été étudiées plus à fond, notamment au point de vue de leur morphologie et de leur évolution. C'est de travaux préliminaires semblables que la physiologie de la fermentation et la doctrine des maladies contagieuses ont également besoin pour pouvoir arriver à établir des points de départ bien certains.

Table des matières du tome premier.

Première livraison, 1878.

Pag.

Laboratoire de Carlsberg 1
Fonds de Carlsberg 4
Status du fonds de Carlsberg 6

Sur le pouvoir rotatoire que le moût de bière exerce sur la lumière polarisée, et sur ses variations pendant la fermentation. Par J. Kjeldahl 12
Dosage de l'extrait. Par J. Kjeldahl 15
Dosage de l'alcool dans la bière. Par J. Kjeldahl 17
Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la levûre basse du Saccharomyces cerevisiæ. Par R. Pedersen 22
Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation. Par R. Pedersen 38
Recherches sur l'influence de la température sur la production de l'acide carbonique par l'orge germée dans l'obscurité. Par R. Pedersen 44

Deuxième livraison, 1879.

Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre. Avec deux planches. Par Emil Chr. Hansen .... 49—75

1. Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de biére . 49
2. Sur les membranes 67
3. Organismes observés par l'auteur dans la bière et dans le moût 72

Oidium lactis Fres 75
Saccharomyces colorés en rouge et cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces 81
Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation 88

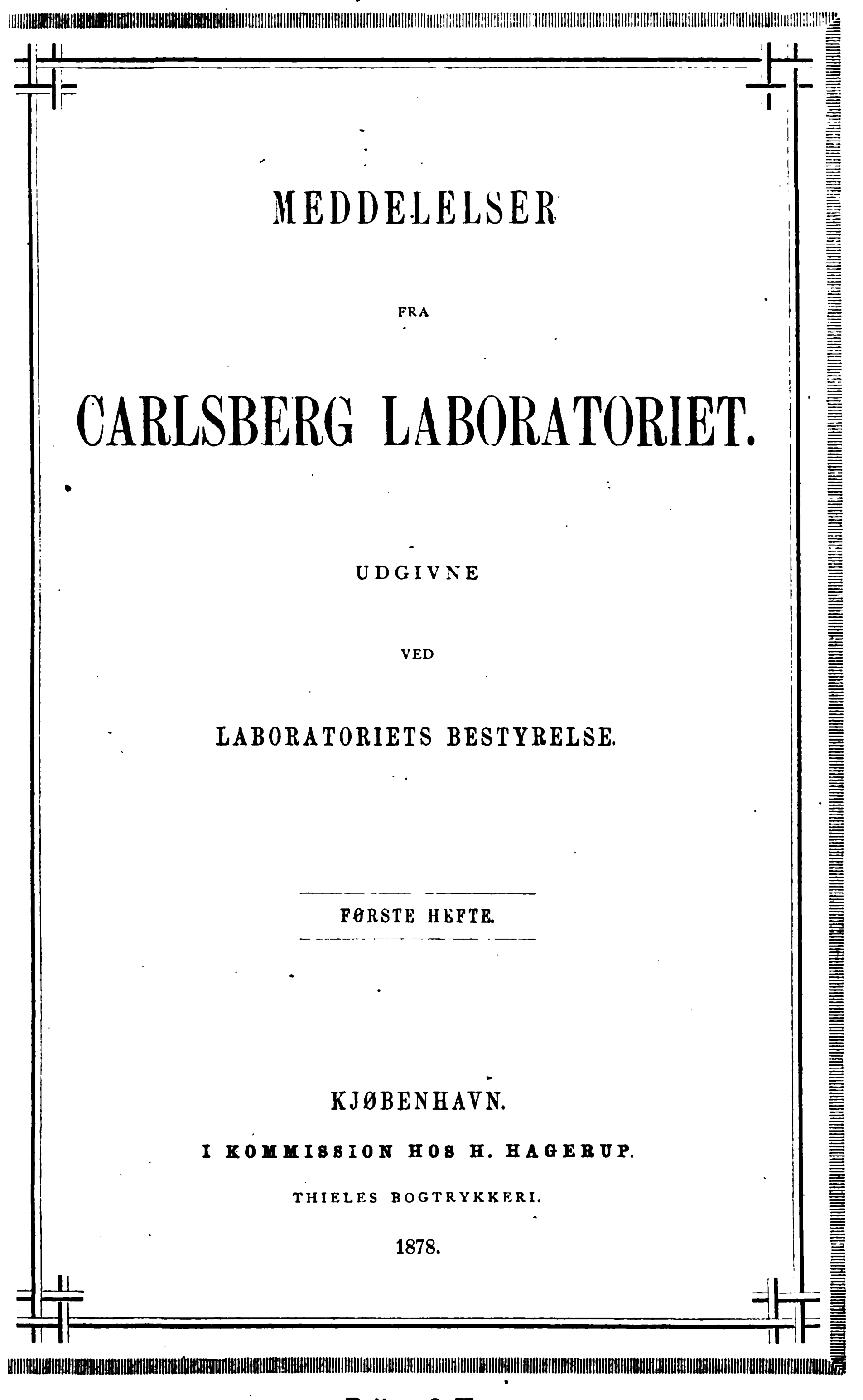
Pag.
Hypothèse de Horvath 94
Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur et Myc. Pasteurianum nov. sp. 96
Explication des Planches 100
Recherches sur les ferments producteurs de sucre. Par J. Kjeldahl .. 109
Recherches sur la diastase 111
Influence de la quantité de diastase employée sur la production du sucre 117
Influence de la température sur la production du sucre ... 121
Influence de la durée de la réaction sur la production du sucre 124
Mesure du pouvoir fermentatif 129
Influence de la concentration sur la production du sucre .. 142
Influence des corps étrangers sur la production du sucre .. 143
Recherches sur la ptyaline (diastase de la salive) 153

Troisième livraison, 1881.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par Emil Chr. Hansen 159
I. Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature. (Avec trois figures dans le texte) 159
Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques. (Avec deux figures dans le texte). Par Emil Chr. Hansen 184
Recherches sur l'inventine. Par J. Kjeldahl 186
Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge et du malt, spécialement au point de vue de la présence du sucre de canne. Par J. Kjeldahl 189

Quatrième livraison, 1882.

Recherches sur les organismes qui, à différentes épopues de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière. (Deuxième communication. Avec deux figures dans le texte. Par Emil Chr. Hansen....... 197



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

FØRSTE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1878.

Priis: 2 Kr.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaar i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

INDHOLD.

Side

Carlsberg Laboratoriet (med Grundplan) III
Carlsbergfondet, dets Stiftelse og Statuter VII

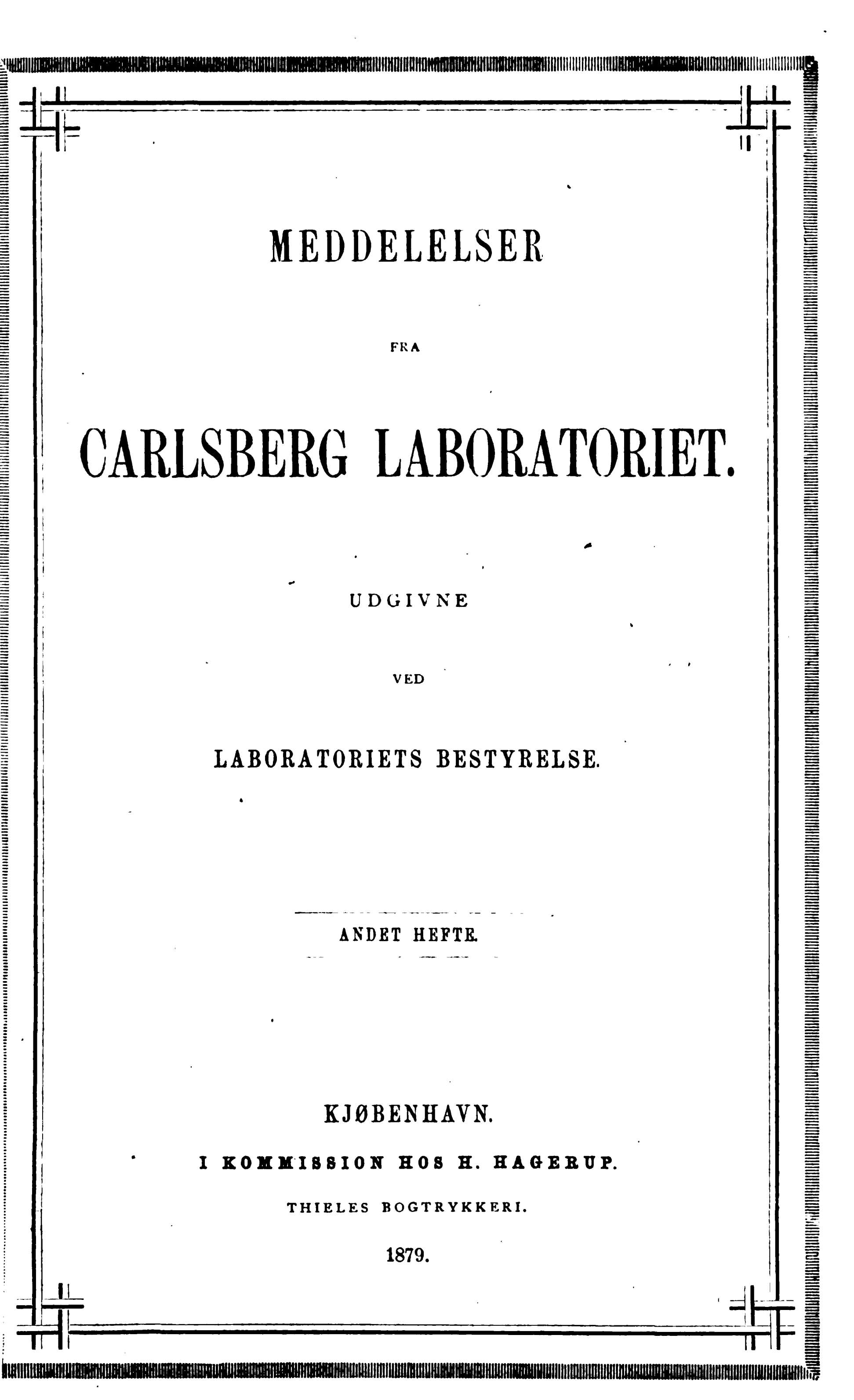
J. Kjeldahl: Om Ølurts Drejningsevne for plansat Lys og dens Forandring under Gjæringen 1
J. Kjeldahl: Om Extraktbestemmelser 8
J. Kjeldahl: Om Vinaandsbestemmelser 18
R. Pedersen: Undersøgelser over de Faktorer, der have Indflydelse paa Formeringen af Undergjærsformen af Saccharomyces cerevisiæ (med to Træsnit og en Tavle) 40
R. Pedersen: Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver (med en Tavle) 72
R. Pedersen: Undersøgelser over Varmegradens Indflydelse paa Udskilningen af Kulsyre hos Byg-Kimplanter i Mørke (med en Tavle) 86

RÉSUMÉ.

Pg.

Laboratoire de Carlsberg 1
Fonds de Carlsberg 4
Statuts du fonds de Carlsberg 6

Sur le pouvoir rotatoire que le moût de bière exerce sur la lumière polarisée et sur ses variations pendant la fermentation. Par M. J. Kjeldahl.. 12
Dosage de l'extrait. Par M. J. Kjeldahl 15
Dosage de l'alcool dans la bière. Par M. J. Kjeldahl 17
Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la lèvûre basse du Saccharomyces cerevisiæ. Par M. R. Pedersen 22
Sur influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation. Par M. R. Pedersen 38
Recherches sur l'influence de la température sur la production de l'acide carbonique par l'orge germée dans l'obscurité. Par M. R. Pedersen 44



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

ANDET HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1879.

Priis: 5 Kr.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaaer i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

Rettelser:

Side	134,	L.	18 f. o.	20,0	læs	19,5
—	„,	„	10 og 7 f. n.	9,6	—	9
—	„,	„	6 f. n.	219	—	233
—	135,	„	1, 2 og 3 f. o.	20	—	19,5
—	„,	„	2 og 7 f. o.	187	—	182

INDHOLD.

Side

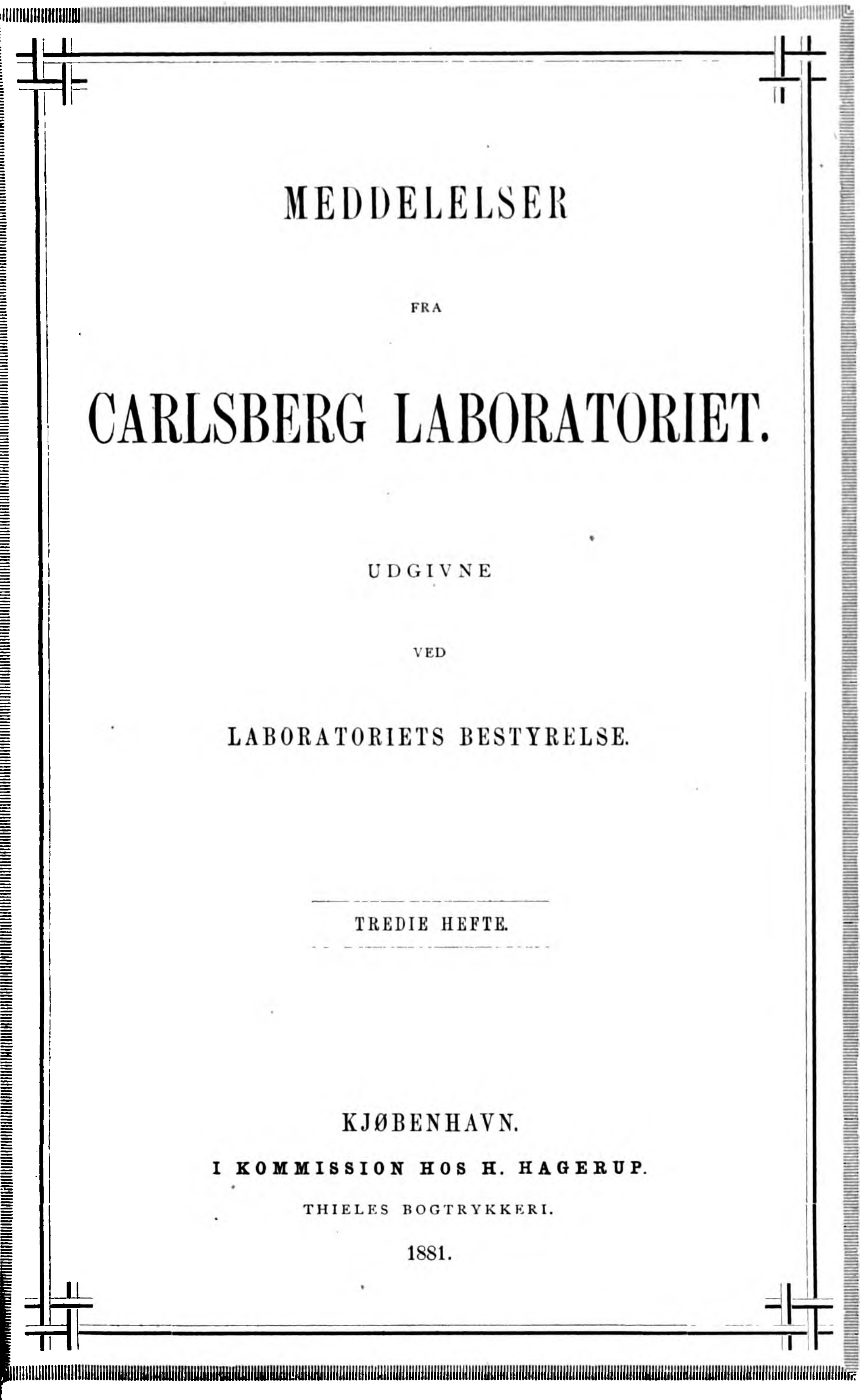
J. Kjeldahl: Undersøgelser over sukkerdannende Fermenter 107
Undersøgelser over Diastase 121
Diastase-Mængdens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 130
Temperaturens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 136
Indflydelsen af Reaktionens Varighed paa Sukkerdannelsen . 141
Maaling af Fermentevne 147
Koncentrationens Indflydelse paa Sukkerdannelsen 163
Fremmede Stoffers Indflydelse paa Sukkerdannelsen........ 165
Undersøgelser over Ptyalin (Spytdiastase) 178
Emil Chr. Hansen: Bidrag til Kundskab om hvilke Organismer, der kunne forekomme og leve i Øl og Ølurt (med to Tavler).... 185—235
1. Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt 185
2. Om Hinderne 209
3. De af Forfatteren i Øl og Ølurt iagttagne Organismer...... 222
Oidium lactis Fres. (Den saakaldte Mælkesyregjærsvamp)..... 235
Rødfarvede Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler 253
Forsøg over den Indflydelse, som Indledning af atmosfærisk Luft i gjærende Urt under Gjæringen udøver 265
Horvaths Hypothese 271
Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur og Mycoderma Pasteurianum nov. sp. 275
Forklaring over Tavlerne 282

Carlsberg Laboratoriet 292

RÉSUMÉ.

Pg.

Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le moût de bière et y vivre. Avec deux planches. Par M. Emil Chr. Hansen .... 49—75
1. Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière 49
2. Sur les membranes 67
3. Organismes observés par l'auteur dans la bière et dans le moût 72
Oidium lactis Fres. 75
Saccharomyces colorés en rouge et cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces 81
Sur l'influence que l'introduction de l'air atmosphérique dans le moût qui fermente exerce sur la fermentation 88
Hypothèse de Horvath 94
Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur et Myc. Pasteurianum nov. sp. 96
Explication des Planches 100
Recherches sur les ferments producteurs de sucre. Par M. J. Kjeldahl 109
Recherches sur la diastase 111
Influence de la quantité de diastase employée sur la production du sucre 117
Influence de la température sur la production du sucre .. . 121
Influence de la durée de la réaction sur la production du sucre 124
Mesure du pouvoir fermentatif 129
Influence de la concentration sur la production du sucre ... 142
Influence des corps étrangers sur la production du sucre ... 143
Recherches sur la ptyaline (diastase de la salive) 153



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

TREDIE HEFTE.

KJØBENHAVN.
I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.
THIELES BOGTRYKKERI.
1881.

Pris: 2 Kr.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaae i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

Rettelse.

Side 326, Lin. 4 f. n. Steder eller, læs: Steder oven Jorden eller.

INDHOLD.

Side

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 293
I. Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur (med 3 Træsnit) 293

Emil Chr. Hansen: Et fugtigt Kammer til Dyrkning af Mikroorganismer (med 2 Træsnit) 328

J. Kjeldahl: Nogle Iagttagelser over Invertin 331

J. Kjeldahl: Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt med særligt Hensyn til Forekomsten af Rørsukker 339

RÉSUMÉ.

Pg.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par M. Emil Chr. Hansen 159
I. Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature. (Avec trois figures dans le texte) 159

Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques. (Avec deux figures dans le texte). Par M. Emil Chr. Hansen 184

Recherches sur l'invertine. Par M. J. Kjeldahl 186

Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge et du malt, spécialement au point de vue de la présence du sucre de canne. Par M. J. Kjeldahl 189

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE

FJERDE HÆFTE

KJØBENHAVN
I KOMMISSION HOS H. HAGERUP
H. H. THIELES BOGTRYKKERI
1882

Pris 1 Kr. 50 Øre

Alle Temperaturangivelser efter *Celsius.*

kg.	Kilogram.	l.	Liter.
g.	Gram.	cm^3	Kubikcentimeter.
cg.	Centigram.	cm.	Centimeter.
mg.	Milligram.	mm.	Millimeter.
		μ.	Mikromillimeter.

MEDDELELSER FRA CARLSBERG LABORATORIET

udgaa i tvangfri Hæfter. Naar der er udkommet saa mange Hæfter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsfortegnelse med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

INDHOLD

Side

EMIL CHR. HANSEN: Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Anden Meddelelse. Med 2 Træsnit) 381

Carlsberg Laboratoriet 455

Rettelser til 1. Bind 456

RÉSUMÉ

Pg.

Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière. (Deuxième communincation. Avec deux figures dans le texte). Par EMIL CHR. HANSEN 197

A partir de la présente livraison, le résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg sera tiré à part.

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

II. BIND.

MED TRÆSNIT I TEXTEN OG 14 TAVLER.

1883—1888.

AVEC UN RÉSUMÉ EN FRANÇAIS.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1888.

Indhold af II. Bind.

Første Hefte, 1883.

Side

J. Kjeldahl: En ny Methode til Kvælstofbestemmelse i organiske Stoffer 1

Andet Hefte, 1883.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 29

II. Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces (med 2 Træsnit og 3 Tavler) 29

Hvad have vi hidtil vidst herom? 29

Methoder 46

Experimenter 66

Tilbageblik 80

Forklaring over Tavlerne 86

III. Om Pasteurs Torula (med 3 Træsnit) 87

IV. Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe. 93

Tredie Hefte, 1884.

W. Johannsen: Om Frøhviden og dens Udvikling hos Byg (med 3 Tavler) 103

Lavrits Knudsen: Om Vedligeholdelse af konstant Temperatur (med 3 Træsnit) 134

Fjerde Hefte, 1886.

Just Chr. Holm og S. V. Poulsen: Hvor ringe en Infektion af „vild Gjær“ kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af Saccharomyces cerevisiæ? 147

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 152

V. Methoder til Fremstilling af Renkulturer af Saccharomyceter og lignende Mikroorganismer (med 4 Træsnit) 152

VI. Om Hindedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Hertil Tavle I—VIII) 168

Almindelige Iagttagelser 168

Experimenter 176

Mine Forgængeres Bidrag til Kundskaben om Hindedannelsen hos Saccharomyceterne 200

Tilbageblik 206

Forklaring over Tavlerne 209

Femte Hefte, 1888.

Side

Just Chr. Holm og S. V. Poulsen: Hvor ringe en Infektion af „vild Gjær" kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af Saccharomyces cerevisiæ? 2den Meddelelse (med 1 Træsnit) 211

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 220

VII. Om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne (med 6 Træsnit) 220

1. Indledning, p. 220.
2. Saccharomyces, p. 222. Sacch. Marxianus, p. 222. Sacch. exiguus, p. 224. Sach. membranæfaciens, p. 225. Resultater, p. 227.
3. Alkoholgjærsvampe med sacharomyceslignende Celler, p. 229. Mycoderma cerevisiæ, p. 229, Sacch. apiculatus, p. 230. Pasteurs Torula, p. 231. Monilia candida, p. 234. Resultater, p. 244.
4. Mucor, p. 245. Mucor erectus, p. 246. Mucor spinosus, p. 247. Mucor Mucedo, p. 248. Mucor racemosus, p. 249. Resultater, p. 250.
5. Oidium lactis, p. 252.
6. Tilbageblik, p. 252.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis 257

I. Indledning 257

II. Gjær-Rendyrkningen i Industriens Tjeneste (med 10 Træsnit) 259

1. Om Indførelsen af rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften og de herved vundne Resultater, p. 259. Hvori det nye Fremskridt bestaar, p. 259. Mine Forgængeres Bidrag, p. 261. De vundne praktiske Resultater, p. 264.
2. Den fabrikmæssige Fremstilling af rendyrket Gjær, p. 272. Forarbeiderne, p. 272. Min gamle Fremgangsmaade, p. 276. Rendyrkningsapparatet, p. 281. Om Filtrene, p. 294. Fremstillingen af Gjæren til Rendyrkningsapparatet og dens Forsendelse, p. 298. Fortegnelse over de Bryggerier, i hvilke Rendyrkningsapparatet findes, p. 303.

III. Iagttagelser over Bryggeri-Gjærarter 305

IV. Om den praktiske Undersøgelse af Øllet i Lagerfadene med Hensyn til dets Holdbarhed 317

J. Kjeldahl: Nogle Bemærkninger om den jodometriske Syretitrering .. 323

J. Kjeldahl: Et Destillationsapparat til Brug ved Kvælstofbestemmelse (med 1 Træsnit) 330

W. Johannsen: Om Gluten og dets Plads i Hvedekornet (med 3 Træsnit) 332

Carlsberg Laboratoriet 357

Rettelse.

Side 21, Linie 21: 7/200 læs: 1/14.

En ny Methode til Kvælstofbestemmelse i organiske Stoffer.

Af

J. Kjeldahl.

Mellem Bestemmelserne af de elementære Bestanddele af de organiske Stoffer spiller den af Kvælstofmængden en vigtig og særegen Rolle. Thi medens Analysen af Kulstof- og Brintmængden i Regelen kun har Betydning ved rent videnskabelige Undersøgelser, til Fastsættelse af nye Stoffers Sammensætning o. lgn., har Bestemmelsen af Kvælstofmængden ved Siden deraf en overordentlig praktisk Vigtighed, navnlig som det eneste, hidtil kjendte, nogenlunde paalidelige Middel til Bedømmelse af Mængden af Æggehvidestoffer i de forskjellige Produkter af Dyre- eller Planteriget, for hvis Værdsættelse ofte netop Indholdet af de nævnte Stoffer afgiver den paalideligste Maalestok. Af de analytiske Arbejder, der forefalde i de praktiske Undersøgelses-Laboratorier, paa Forsøgsstationer for Landbruget og i fysiologiske Anstalter, er derfor ogsaa Bestemmelsen af Kvælstof ubetinget et af dem, der hyppigst forekomme. I mangfoldige Tilfælde vilde regelmæssige Analyser af denne Art ogsaa kunne være et værdifuldt Hjælpemiddel i forskjellige Fabrikationsgrene, hvor der arbejdes med kvælstofholdige Materialer. At saadanne ikke oftere foretages, end Tilfældet er, har dog sine nærliggende Grunde. En slig Analyse, hvad enten den foretages efter Dumas' eller efter Will og Varrentrapps Methode, selv med de Forbedringer i Udførelsen, som saa mange Aars Erfaringer og saa mange derpaa samvirkende Kræfter have hidført i disse, er altid en forholdsvis langvarig Sag, idet en enkelt Analyse kræver flere Timers Arbejde og i Løbet af denne Tid udfordrer en stadig Opmærksomhed fra Analytikerens Side. Deraf fremgaar,

at man ikke vil kunne bringe en slig Analyse til Anvendelse under Omstændigheder, hvor der maaske vilde kræves en længere Række saadanne Bestemmelser daglig, og hvor man til deres Udførelse ikke raader over en større Arbejdskraft. Naar dertil kommer, at en almindelig Elementaranalyse altid kræver et vist Maal af Færdighed og altsaa næppe vel lader sig udføre undtagen af en øvet Kemiker, og at den fordrer et særligt og kostbart Apparat (Forbrændingsovnen), er det indlysende, at den har maattet forblive indskrænket til de kemiske Laboratorier i snævrere Forstand, og at den selv indenfor disse i sin nuværende Skikkelse ofte har opslugt en betydelig Del af Kemikernes og Fysiologernes Tid.

Blandt de Fabrikationsgrene, for hvilke den omtalte Analyse spiller en særlig vigtig Rolle, staar Bryggerivæsenet i første Række. Det vilde her være meget ønskeligt at have en let Methode til Bestemmelse af Byggets Kvælstofholdighed, der har en saa stor Betydning for dets Anvendelse til Malt; Gjærens Indhold af Kvælstof vil det ligeledes oftere kunne have Interesse at erfare, ligesom det overhovedet under hele Fabrikationen er af megen Vigtighed at kunne bedømme, hvorledes Kvælstoffet fordeler sig imellem de forskjellige Produkter. Det var mig derfor magtpaaliggende at søge at tilvejebringe en Methode til Kvælstofbestemmelse, der paa en Gang var let at udføre, hurtig og nøjagtig, saa at man turde haabe, at den kunde vinde Indpas i den praktiske Bedrift, og hvorved paa den anden Side i videnskabelige Forsøgsstationer paa dette Omraade mangfoldige Arbejder vilde kunne tages for, og Spørgsmaal bearbejdes, som man hidtil ikke, eller i utilstrækkelig Grad, havde behandlet paa Grund af de analytiske Methoders Besværlighed og Langvarighed, der her ved det i Almindelighed saa let foranderlige Materiale var til dobbelt Hinder.

Særlig paatrængende blev dog dette Spørgsmaal for mig, da jeg for nogen Tid tilbage foresatte mig en speciel Undersøgelse af Æggehvidestoffernes Vandring og Opløsning under Brygningsprocessen, og derved idelig blev stillet overfor den med de forhaanden værende Methoder uløselige Opgave, i Løbet af kort Tid at skulle foretage betydelige Rækker af Kvælstofbestemmelser. Jeg lagde derfor foreløbig min Hovedopgave ganske til Side, for udelukkende at henvende min Opmærksomhed paa det omtalte Spørgsmaal. Jeg har derved været saa heldig at løse dette paa en meget tilfredsstillende Maade og opnaaet, at jeg herved kan forelægge Kemikerne en Methode, hvormed man med tilstrækkelig Nøjagtighed og med overraskende Hurtighed er istand til at bestemme Kvælstofmængden

i næsten alle organiske Stoffer. Naar dertil føjes, at den nye Methode yder mange andre, tildels meget væsentlige Fordele, som jeg i det følgende paa de paagjældende Steder skal have Lejlighed til at fremhæve, turde jeg vel have Anledning til at nære det Haab, at den vil vinde nogen Udbredelse i Praxis, særlig til agrikultur-kemiske og fysiologiske Undersøgelser.

Ved min Søgen efter en Fremgangsmaade til Kvælstofbestemmelse, der kunde opfylde de nævnte Betingelser til en let og hurtig Udførelse, har jeg fra først af stillet mig som Opgave at søge at gjennemføre denne ad den vaade Vej. Saasnart Behandlingen skal finde Sted ad den tørre Vej, og der skal anvendes Glødning, vil man altid være tvungen til at benytte et mere kompliceret Apparat med lufttætte Forbindelser, der koste meget Arbejde at tilvejebringe; man maa rykke langsomt frem med Ophedningen, paase, at Luftudviklingen foregaaer paa regelmæssig Maade, og tvinges derved til uafbrudt at have sin Opmærksomhed fæstet paa Forbrændingens Gang, saa at man i det højeste kan have to Analyser i Arbejde paa samme Tid. Naar Reaktionen derimod foregaar i en Opløsning, er Manipulationen som oftest langt simplere, Apparatet let at sammenstille eller maaske endog reduceret til almindelige Bægerglas eller Kogeflasker. Ligesaalidt vil det i Regelen her være nødvendigt at lade Indvirkningen foregaa paa smaa Portioner ad Gangen; hyppigst blandes den hele Mængde af de Stoffer, der skulle reagere paa hverandre, strax sammen, og Reaktionen foregaar da enten med det samme eller fuldbyrdes først efter nogen Tids Henstand, uden at der dog i Løbet af denne Tid kræves mindste Tilsyn eller Pasning.

Paa den anden Side er man sjældent istand til at indvirke saa kraftigt paa de organiske Stoffer ad den vaade Vej, som det er nødvendigt for at opnaa Formaalet for en Elementaranalyse: en Iltning, som bevirker en fuldstændig Sønderdeling af Molekylet, og hvis Produkter alene ere Kulsyre, Vand og Kvælstof eller Ammoniak. Naar man tager Glødning til Hjælp, lykkes dette selv med mindre kraftige Iltningsmidler (Kobberilte), idet de organiske Forbindelser i Heden spaltes i simplere Grupper, og den høje Temperatur begunstiger Iltens Indvirkning paa disse. Ved slige høje Temperaturer forholde tilmed alle organiske Stoffer sig saa nogenlunde ens; i det højeste kan der være Tale om, at de ere let eller vanskelig forbrændelige. Anderledes er det ved Iltningen af en Opløsning; her er selv det aller kraftigste Iltningsmiddel, vi besidde, det manganoversure Kali utilstrækkelig, idet herved i de fleste Tilfælde kun en Del af det organiske Stof omdannes til de

nævnte Endeprodukter, Kulsyre, Vand og Ammoniak (eller frit Kvælstof, hvad der kun sjældent dannes under disse Omstændigheder), medens en anden Del overføres til visse, meget stabile Forbindelser, der haardnakket modsætte sig al videre Iltning. Dernæst forholde de organiske Stoffer sig meget forskjelligt i denne Henseende, idet nogle iltes fuldstændigt, medens andre kun angribes i ringe Grad.

Iltningen med manganoversurt Kali kan foretages enten i sur eller i alkalisk Opløsning. I første Tilfælde er Virkningen fuldstændigere, men næsten alle Undersøgelser have dog behandlet Iltningen i alkalisk Vædske, da Processen her foregaar roligere og lettere fører til vel karakteriserede Produkter. Det er navnlig Wanklyn, som, i Forbindelse med adskillige Medarbejdere, har leveret talrige Arbejder herover, idet han har undersøgt Virkningen af Kali og manganoversurt Kali paa et stort Antal Stoffer, nærmest kun med den derved stedfindende Ammoniakdannelse for Øje. Han har derved søgt at paavise, at, om end kun et forholdsvis mindre Antal Stoffer herved afgive alt deres Kvælstof som Ammoniak, er det for hvert enkelt Stof altid en bestemt Procentmængde heraf, der omdannes paa den nævnte Maade. Idet han finder en saadan fælles Faktor for Æggehvidestoffernes Gruppe, grunder han derpaa den Bestemmelse af Kvælstof i organiske Forbindelser, som ved Analysen af Drikkevand er bleven saa almindelig anvendt, væsentlig paa Grund af den lette Udførelse, og fordi man her mangler en anden, nogenlunde haandterlig Methode. Derimod har den Anvendelse, som Forf. har søgt at gjøre af samme Methode til Bestemmelse af Kvælstof i Plantestoffer i Almindelighed, næppe opnaaet nogen Udbredelse udenfor England. Paa Grund af Sagens store Betydning, særlig for dette Laboratorium, har jeg for flere Aar tilbage anstillet en Del Forsøg efter Wanklyns Methode, dels med de yderst smaa Stofmængder, som den engelske Forfatter anvender, og Bestemmelse af Ammoniaken kolorimetrisk med Nesslers Reagens, Jodkviksølv-Jodkalium, dels, da denne Bestemmelsesmaade dog nærmest maa betragtes som en Nødhjælp, der anvendes, hvor Omstændighederne gjøre det nødvendigt at arbejde med smaa Spor, f. Ex. ved Vandanalyser, med en lignende Stofmængde, som den, der almindelig anvendes til kvantitative Analyser, og Bestemmelse af Ammoniaken ved Titrering. I alle Tilfælde fandt jeg imidlertid, at Ammoniakdannelsen var ganske ufuldstændig, og, hvad værre var, Resultaterne temmelig uoverensstemmende.

En Redegjørelse over Wanklyns og andre Forfatteres Arbejder paa dette Omraade er vel ikke direkte nødvendig til Forstaaelse af det følgende, men da en Oversigt dog for Sammenligningens Skyld vil kunne have Interesse for Læserne af dette Tidsskrift, vil jeg i nedenstaaende Anmærkning meddele et ganske kortfattet Uddrag af disse Forsøg[1]).

---

[1]) I sin første Meddelelse herom antager Wanklyn, at Albuminstofferne afgive alt deres Kvælstof som Ammoniak ved Kogning med Kali og manganoversurt Kali, og mener endogsaa at have gjort den Iagttagelse, at de ved Kogning med Kali alene (naar denne fortsættes tilstrækkelig længe) afgive en Trediedel, ved derpaa følgende Tilsætning af Permanganatet de to andre Trediedele. Ved Bestemmelsen af Kvælstof i Drikkevand tages 1 Litre Vand for, hvoraf der afdestilleres tre Fraktioner: 1; 300—500 Kub. Centimeter efter Tilsætning af lidt kulsurt Natron. Destillatet indeholder Kvælstoffet fra Ammonsalte og Urinstof. 2; 300 Kub. Centimeter efter Tilsætning af 10 Kub. Centimeter stærk Kaliopløsning. Heri findes henved en Trediedel af Albuminstoffernes Kvælstof. 3; 300 Kub. Centimeter efter Tilsætning af Permanganat. Heri findes Resten af Albumin-Kvælstoffet (Wanklyn, Chapman og Smith i Journal of the Chemical Society, Entire Series, Vol. XX, 1867, pag. 444).

I deres næste Afhandling (l. c., pag. 593) angive de samme Forff. imidlertid, at Ammoniakudbyttet ikke svarer til den hele Mængde, som Æggehvidestofferne theoretisk vilde kunne udvikle, men kun til to Trediedele heraf, idet de dog fastholde, at det er en aldeles konstant Brøk, der faas paa denne Maade. I den sidste Meddelelse af Wanklyn og Cooper (Philosophical Magazine, 5 Series. Vol. III, 1877, pag. 382) angives derimod, at man erfarer Protëinstofmængden, ved at multiplicere den fundne Ammoniakmængde med 10. Da Protëinstoffer af den almindelige Sammensætning med omkring 16 % Kvælstof ville kunne give omtrent 20 % Ammoniak, ses det, at vi nu kun skulde faa Halvdelen af den theoretiske Mængde. Forff.s Angivelser ere saaledes i stærk Modsigelse med hverandre.

I Journal of the Chemical Society, Ent. Ser., Vol. XXI, 1868, pag. 161, findes en længere, interessant Afhandling af Wanklyn og Chapman, hvori de for et stort Antal organiske Stoffer give Oplysning om det Omfang, hvori disse afgive deres Kvælstof som Ammoniak ved Behandling med Kali og Permanganat. I de nedenstaaende Tabeller er sammenstillet de Resultater, hvortil de nævnte Forfattere ere komne.

Følgende Stoffer afgive paa denne Maade alt deres Kvælstof som Ammoniak:

	Beregnet Ammoniakudbytte af den hele Kvælstofmængde.	Fundet.
Asparagin	22,66 %	21,92 %
Piperin	5,96 -	5,41 -
Saltsurt Diamylamin	8,79 -	7,98 -

Det er en meget nærliggende Tanke, at Resultaterne vilde falde bedre ud, naar man foretog Iltningen i en sur Vædske, idet

---

	Beregnet Ammoniakudbytte af den hele Kvælstofmængde.	Fundet.
Amylamin	19,54 %	21,8 %
Difenyltartramid $C_{16}H_{16}N_2O_4$	11,33 -	10,21 -
Piperidin, Hippursyre, Narkotin	Ingen Talangivelser.	

Følgende afgive Halvdelen:

	Beregnet Ammoniakudbytte af den halve Kvælstofmængde.	Fundet.
Morfin	2,98 %	2,80 %
Codëin	2,67 -	3,00 -
Papaverin	2.50 -	2,20 -
Strychnin	5,09 -	5,45 -
Methylstrychninjodid	3,57 -	3,33 -
Brucin	4,32 -	4,60 -
Svovlsurt Chinin	4,56 -	4,50 -
Svovlsurt Cinchonin	4,76 -	5,55 -
Nikotin	10,49 -	10,80 -
Naftylamin	5,95 -	6,73 -
Toluidin	7,95 -	8,56 -
Saltsurt Rosanilin	7,06 -	6,48 -

Kreatin afgiver en Trediedel af sit Kvælstof som Ammoniak, Thëin en Fjerdedel. Urinsyre gav omtrent 7 % Ammoniak (næppe mere end en Sjettedel af hele Kvælstofmængden), Gelatine 12.7 %, Kasëin 7,6 %, Albumin 10 %.

Overensstemmelsen mellem de fundne og de beregnede Tal synes dog i de fleste Tilfælde ikke at være tilstrækkelig til derpaa at grunde en analytisk Methode. Dette kan maaske tildels ligge i Bestemmelsen af Ammoniaken ved Nesslers Reagens, om hvilken Forff., skjøndt de meget fremhæve dens store Fortrin, dog indrømme, at den sandsynlige Fejl ved ikke særlig øvede Iagttagere er 5 %. Naar imidlertid Kvælstofmængden i Amylamin, som man vil se i Tabellen, er funden mere end 11 % højere end beregnet, kan dette vel næppe tilskrives andet, end en saa stor Fejl i Ammoniakbestemmelsen.

Frankland og Armstrong (l. c., pag. 77) fik efter denne Fremgangsmaade ved Strychnin 32 %, ved Narkotin 46 %, ved svovlsurt Chinin 57 % af den hele Kvælstofmængde som Ammoniak. Ved Franklands Methode til Bestemmelse af det organiske Kvælstof i Drikkevand (Forbrænding af den inddampede Rest med Kobberilte og Bestemmelse af det luftformige Kvælstof) fandtes i Almindelighed langt højere Resultater end ved Wanklyns.

Wanklyn og Gamgee (l. c., pag. 25) meddele Forsøg over Iltning af Urinstof, Ammoniak og Acetamid ved Overskud af Permanganat i stærk alkalisk Opløsning og ved høj Temperatur (130—

Tilbøjeligheden til Ammoniakdannelse under disse Omstændigheder maatte antages at være større. Det viste sig i Virkeligheden

160°, i tilsmeltede Glas). Under disse Omstændigheder afgives alt Urinstoffets Kvælstof i luftformig Tilstand. ved noget mindre Mængde manganoversurt Kali faas dels Kvælstof, dels Nitrat. Ved de højeste Temperaturer dannes der slet ikke Ammoniak, ved 100° derimod i rigelig Mængde, dog ikke svarende til mere end 22—30% af Kvælstofmængden (i en tidligere Meddelelse have Forff. gjort opmærksom paa, at medens ublandet Urinstof næppe dekomponeres ved Kogning med kulsure eller kaustiske Alkalier, sker dette let, naar det, som Tilfældet er i urent Vand, er blandet med forskjellige andre kvælstofholdige Dekompositionsprodukter). Ammoniak (Chlorid eller Sulfat) gaar helt over til Nitrat, efter endt Proces findes der hverken Ammoniak eller Kvælstof i Glasset. Acetamid forholder sig paa samme Maade.

Hoogewerf og van Dorp (Berichte der deutschen chem. Gesellschaft, X, 1877, pag. 1936 og XI, 1878, pag. 1202) arbejde paa samme Maade som Wanklyn, men med større Stofmængder. Anilin afgiver Halvdelen af sit Kvælstof som Ammoniak (fra 47,8 til 55,2%) og omtrent en Trediedel som Azobenzol. Dette angribes slet ikke yderligere af manganoversurt Kali. Chinin afgiver ligeledes Halvdelen som Ammoniak, Orthotoluidin ligeledes, Paratoluidin kun 40%.

Analysen af Plantestoffer foretage Wanklyn og Cooper (Phil. Magaz., [5], III, pag. 382) paa følgende Maade. 1 Grm. Stof afvejes i en Litreflaske, der tilsættes 20 Kub. Centimeter en Tiendedel normal Kalioplosning, Vand føjes til indtil Mærket, der rystes godt op, og 10—20 Kub. Centimeter (svarende til ligesaa mange Milligram Stof) udtages til en Analyse. 3—500 Kub. Centimeter Vand bringes i en Retort med 50 Kub. Centimeter Kalioplosning (hvori 10 Grm. Kalihydrat) og 0,4 Grm. manganoversurt Kali, hvorpaa ethvert Spor af tilstedeværende Ammoniak udkoges. Efter Tilsætning af Analysen destilleres paany, og Ammoniakmængden i Destillatet bestemmes ved Nesslers Reagens. Forff. anføre endel Bestemmelser, udførte paa denne Maade i forskjellige Prøver af Hvedemel og andre Plantesubstantser. Om Kontrolbestemmelser ved Forbrænding med Kobberilte eller Natronkalk er der mærkelig nok ikke Tale hverken i dette eller i noget af Forff.s tidligere Arbejder.

Imod den Maade, hvorpaa Analysen her forberedes, maa der vistnok rejses en stærk Indsigelse, idet Forff. gaa ud fra den Forudsætning, at Æggehvidestofferne skulde opløse sig fuldstændigt i det kaliholdige Vand. Om nu saadant vel kan finde Sted ved rene Præparater, vil det paa den anden Side være bekjendt for enhver, der har beskjæftiget sig med Analysen af Plantedele, at det aldrig ved Behandling af disse med fortyndet Kalioplosning lykkes at faa en kvælstoffri Rest, men at som oftest endogsaa en meget betydelig Del af Kvælstoffet unddrager sig Udtrækningen. Med Hensyn hertil kan ogsaa henvises til en Afhandling af R. Wagener i Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 25, 1880, pag. 195; skjøndt Forf.

ogsaa, at Udbyttet af Ammoniak blev betydelig forøget, naar man til Opløsningen af Æggehvidestoffet satte fortyndet Svovlsyre, dernæst iltede med et Overskud af manganoversurt Kali under Kogning og til Slutning destillerede efter Overmætning med Natron. Paa denne Maade fik jeg i nogle Forsøg omtrent 70 % af det i Æggehvidestoffet tilstedeværende Kvælstof som Ammoniak. Da Omdannelsen dog altsaa ogsaa i dette Tilfælde var ufuldstændig og Overensstemmelsen mellem Resultaterne ingenlunde bedre, var der saaledes i analytisk Henseende ikke vundet noget ved denne Forandring.

Ganske anderledes stille Forholdene sig imidlertid, naar man først underkaster de tørre Stoffer en stærk Opvarmning med koncentreret Svovlsyre, idet de herved, saa godt som uden Undtagelse, dekomponeres til Forbindelser, der ved paafølgende Iltning med manganoversurt Kali afgive deres Kvælstof fuldstændigt til Syren i Form af Ammoniak. Principet for den nye Methode er derfor følgende: Man opvarmer det afvejede Stof i en lille Kogeflaske med en forholdsvis anselig Mængde koncentreret Svovlsyre til en Temperatur, der nærmer sig Svovlsyrens Kogepunkt, og ilter dernæst den paa denne Maade tilvejebragte Opløsning med et Overskud af tørt, pulverformigt Permanganat.

Det vil let ses, at man næppe vel kan tænke sig en kraftigere Maade at indvirke paa et organisk Stof, naar man ikke skal skride til Glødning, naar Behandlingen skal foregaa ad den vaade Vej. Men heldigvis har, som sagt, denne Behandling ogsaa i det overvejende Antal Tilfælde vist sig at være tilstrækkelig.

En Hovedbetingelse for i det hele taget at kunne anvende den her omtalte Fremgangsmaade, er den, at der under de nævnte Betingelser ikke finder nogen Dekomposition Sted af Ammoniaken. Om svovlsurt Ammon angives, at det ved 280° begynder at de-

---

anvender en langt stærkere Kalioplesning (0,125 % K O H) end Wanklyn (0,0108 % K O H), bliver dog i de forskjellige Plantesubstantser, han har undersøgt (Havre, Hvedeklid, Boghvede, Palmekage o. fl.), fra 6 til 50 % af den hele Kvælstofmængde uopløst tilbage.

Ordene i den engelske Original (»The contents of the flask are then shaken up so as to ensure thorough mixture«) kunne vel antyde, at Forff. tænke sig Muligheden af, ved stærk Omrystning at tilvejebringe en aldeles jævn Opslemning af Stoffet, saa at man, ved at udtage en Hundrededel af Vædsken, ogsaa vilde faa en Hundrededel af Analysen; men Tilsætningen af Kalioplesningen synes dog at vise, at de tilstræbe en Opløsning af Protëinstofferne.

komponeres, idet Syren virker iltende paa Ammonet, saa at der dannes Vand og frit Kvælstof. Da denne Temperatur er lavere end Svovlsyrens Kogepunkt, vil det svovlsure Ammon i mine Forsøg altsaa almindeligvis blive udsat for en saa høj Varme, at en Afspaltning af frit Kvælstof kunde befrygtes, hvorved dog maa erindres, at Opvarmningen her, med det store Overskud af Syre, foregaar under væsentlig andre Betingelser, end de, hvortil hin Angivelse refererer sig, Ophedning af Saltet for sig. End mere synes en Sønderdeling at kunne befrygtes ved Iltningen med det manganoversure Kali, der under de Omstændigheder, hvor den her foretages, finder Sted under meget voldsomme Fænomener. Forsøget viser imidlertid, at der hverken ved den blotte Opvarmning med Syre eller ved Iltningen tabes Ammoniak: 0,0925 Grm. svovlsurt Ammon blev opvarmet i 4 Timer med 10 Kub. Centimeter koncentreret Svovlsyre til en saa høj Temperatur, at Syren stod paa Nippet til at koge; derefter tilsattes hurtigt pulverformigt Permanganat i rigelig Mængde, og Ammoniaken afdestilleredes efter Overmætning med Natron. Man fik en Mængde, der svarede til 0,0928 Grm. svovlsurt Ammon, altsaa lig med den indvejede Mængde. Dette er kun et mellem flere lignende Forsøg, som jeg har udført, da det herved indvundne Resultat, som sagt, er af fundamental Vigtighed for Methodens Brugbarhed.

Ved Udførelsen af en Analyse gaar man frem paa følgende Maade:

Det foreliggende Stof afvejes i en lille, i Forvejen vejet Kogeflaske, den samme, i hvilken den skal lide den paafølgende Behandling. Dette er allerede ved faste Stoffer en ret bekvem Omstændighed, men, hvor det drejer sig om Bestemmelsen af Kvælstof i Opløsninger, bliver det en meget betydelig Lettelse i Arbejdet. Man tænke blot paa de forskjellige Kunstgreb, som man ved slige Lejligheder maatte ty til; saaledes Inddampning i de Hofmeisterske Skaale af meget tyndt Glas, som tilligemed Analysen pulveriseredes med Natronkalk og indførtes i Forbrændingsrøret. Det var dog herved ikke altid let at undgaa, at der sprang smaa Stykker bort under Pistillen, ligesom det ofte voldte Besvær at faa de meget tynde og flade Glasskaar med det derpaa siddende Stof tilbørlig findelte og blandede med Natronkalken. Den Methode, som vi hidtil hyppigst have anvendt paa Carlsberg Laboratorium, er udtænkt af Reischauer. Man lader her den paagjældende Opløsning fra en Byrette langsomt glide ned paa Kviksølv, der i en flad Jernskaal (Gjennemsnit 18 Centimeter, Dybde 2,5 Centimeter) holdes opvarmet til henimod 100°; efter at al Vædsken er nedbragt, lader

man Varmen stige til omtrent 110°, for hurtigt at opnaa en fuldstændig Udtørring. Denne Fremgangsmaade er meget elegant og forholdsvis let at udføre, men kræver dog ogsaa noget Arbejde og en Del Paapasselighed. Prof. Aubry inddamper Opløsningerne i smaa Kapsler af Staniol; naar disse ere bragte i Blandingsmorteren, amalgameres Tinnet ved en Draabe Kviksølv, hvorefter det hele let lader sig pulverisere og blande med Natronkalken. Trods det sindrige ved flere af disse Fremgangsmaader er det dog ulige heldigere, ganske at kunne undvære dem, hvad der, som sagt, er Tilfældet ved den nye Methode. Her behøver man blot at afveje eller afmaale det fornødne Kvantum Opløsning i den lille Kogeflaske; naar Vandet da efter nogen Tids Henstand i Tørreskabet er dampet bort, har man just Extraktet paa det Sted, hvor man skal have det.

Angaaende den Stofmængde, som man passende bør tage til en Analyse, da skal jeg senere komme nærmere tilbage hertil.

Man tilsætter nu en forholdsvis anselig Mængde koncentreret Svovlsyre, ikke gjerne mindre end 20—40 Gange det afvejede Stof. Indenfor temmelig vide Grændser er Mængden deraf vel ligegyldig, men, da det dog af flere Grunde er bekvemt altid at bruge det samme Maal, har jeg altid taget 10 Kub. Centimeter. Man opbevarer da sin Svovlsyre i en Flaske, der lukkes med en Kautschukprop, hvorigjennem der gaar en 10 Kub. Centimeters Pipette, som, naar den ikke bruges, holdes vel tillukket med en Stump Slange og en Glasprop. Man maa i det hele vise megen Omhu for at forhindre Syren fra at indsuge Ammoniak. Det er en nærliggende Indvending mod Methoden, at Faren for at sligt kan indtræffe er langt større her, end ved Anvendelsen af Natronkalk; tilmed kan man udgløde den sidste før Brugen, medens man paa ingen Maade kan fjærne den Ammoniak, som Svovlsyren engang har indsuget. Imidlertid lader dette sig meget vel undgaa, naar man blot viser den tilbørlige Forsigtighed, sørger for, at ingen Draaber af Syre blive siddende paa Flaskens Prop, paa dens Krave eller i dens Hals og navnlig, naar Syren opbevares paa den nys omtalte Maade. Jeg vil dog her til dem, der ville benytte Methoden, anbefale en Forsigtighedsregel, som jeg altid har anvendt, naar jeg foretog en Række af Analyser, nemlig at ledsage disse med et Kontrolforsøg, hvortil tages 10 Kub. Centimeter koncentreret Svovlsyre alene, eller, hvad der af Grunde, jeg senere skal fremhæve, er at foretrække, med noget rent Sukker, men som forøvrigt behandles ganske som de øvrige Analyser, opvarmes ved Siden af disse og lige saa længe, faar sin Tilsætning af manganover-

surt Kali og tilsidst afdestilleres efter Overmætning med Natron. Undertiden faas da paa denne Maade O Kvælstof, men i Almindelighed indeholder den rene Syre, som gaar i Handelen, et, om end kun yderst ringe, Spor af Ammoniak, for hvilket da maa indføres en lille Korrektion i de egentlige Analyser (jvfr. Exemplerne p. 21). Størrelsen af denne Korrektion er det imidlertid lykkedes mig at holde uforandret, selv efter at Syren havde henstaaet flere Maaneder i Laboratoriet.

Kogeflasken hensættes nu paa et Metaltraadsnet over en lille Gasflamme. I næsten alle Tilfælde bliver dens Indhold nu brunt, dernæst hurtigt sort og tjæreagtigt, samtidig med, at der udvikles en Del Svovlsyrling og udstødes hvide Dampe; at hele Processen maa foregaa i et lukket Arbejdsskab med godt Aftræk, behøver jeg ikke her at fremhæve. Nogle Stoffer, som Æggehvidestofferne, opløses næsten strax af Svovlsyren til en mørk, uklar Vædske, andre, f. Ex. Kulhydraterne, paavirkes saaledes, at de tilsyneladende forvandles til et porøst og glindsende Kul. Men idet nu Temperaturen stiger, indtræder der paa engang en meget livlig Reaktion med stærk Luftudvikling, og, hvad der hidtil var uopløst, gaar nu ligeledes i Opløsning. I dette Stadium finder der en stærk Stænkning Sted, hvorfor de Kogeflasker, man benytter, bør have en temmelig snæver Aabning og helst en lang Hals; ved denne sidste er ogsaa den Fordel, at Svovlsyredampene, der ellers kunne være temmelig besværlige, næsten fuldstændigt fortættes. I Henseende til Størrelse og Form svarer en almindelig 100 Kub. Centimeters Kolbe eller en Flaske af samme Rumfang med konisk Legeme meget godt til Øjemedet. Imidlertid spiller ogsaa Glassets Beskaffenhed en vigtig Rolle ved Valget, da de forskjellige Glassorter i meget forskjellig Grad modstaa Indvirkningen af den stærke og hede Syre. Ofte angriber denne Glasmassen meget stærkt, endnu oftere hænder det, at Kolben springer efter en eller flere Opvarmninger, i Reglen dog kun ved meget fine Revner, som kun give sig tilkjende ved de Svovlsyredampe, som herfra stige op langs Kolbens Ydreside. Almindelige 100 Kub. Centimeters Kolber og nogle Kolber, jeg efter Tegning lod forfærdige her i Byen, gik paa denne Maade strax til Grunde. Nogle Kogeflasker, som jeg erholdt fra H. Struers Handel med kemiske Utensilier, viste sig derimod at være af en Glasmasse, der i enhver Henseende tilfredsstillede de nævnte Fordringer, saa at man kunde udføre et meget betydeligt Antal Analyser i hver af dem, uden at den oprindelige Vægt, der var noteret paa dem, forandredes mere end 10—20 mgrm. Da Form og Størrelse dog ikke vare ganske

efter Ønske, har jeg sammesteds bestilt andre af samme Glasmasse, men efter opgiven Tegning, og haaber derved at faa en Kogeflaske, der intet lader tilbage at ønske til dette Brug.

Saalænge den stærke Stænkning vedvarer, kan man lade Kogeflasken ligge ned, med Halsen støttet mod en Korkprop paa Trefodens Ring. Er den tilende, rejser man Kogeflasken op paany, og idet man giver saameget Varme som muligt, det vil sige saameget, at det af og til giver et lille Stød i Vædsken, uden at det dog kommer til Kogning, vil man se de fortættede Svovlsyredampe paa en ret smuk Maade vaske Glassets Sider rene og føre de paa disse siddende, forkullede Partikler ned i Vædsken igjen; for at fremskynde dette, kan man vel ogsaa af og til vende og dreje Flasken saaledes, at Syren føres rundt overalt paa dens Indreside. Men forøvrigt kræve Analyserne i den Tid, Opvarmningen staar paa, aldeles intet Tilsyn, hvad der netop er et af Methodens væsentligste Fortrin, da man som Følge deraf bliver istand til at tage et meget betydeligt Antal Prøver for ad Gangen. Erfaringen viser, at det ikke volder nogen Vanskelighed at regulere Flammens Størrelse, da det overhovedet slet ikke kommer an paa, at Varmegraden holdes særlig konstant. Det væsentlige er blot, at Varmen i det hele taget er høj; det er paafaldende, hvor ufuldstændig Ammoniakdannelsen bliver, naar man kun varmer til 100–150°.

Jo mere Svovlsyre, der tages i Forhold til Stofmængden, desto lettere foregaar, som man kan vide, Opløsningen af dette, og desto mindre lider man af Stænkningen. Denne er ligeledes, paa Grund af de pag. 11 omtalte Forhold, ringere ved rene Æggehvidestoffer, end hvor disse ere blandede med store Mængder Kulhydrater. Ved Anvendelse af 10 Kub. Centimeter Svovlsyre tør man dog næppe nogensinde anvende mere end 1 Grm Stof, da Massen ellers fra Begyndelsen bliver for tyk, og Stænkningen saa stærk, at man let er udsat for at lide Tab derved.

Den tidligere omtalte, livlige Reaktion varer kun meget kort, og derefter er Virkningen tilsyneladende forbi. At dette dog ikke ganske er Tilfældet, men at Svovlsyren vedblivende udøver en langsom iltende Virkning, faar man at se paa en ret overraskende Maade, naar Opvarmningen fortsættes. Man vil da se, at den tykke, næsten tjæreagtige, uigjennemsigtige og ganske uklare Opløsning (det sidste ses ved Fortynding med Vand) efterhaanden bliver lidt gjennemskinnende, saa dyb mørkebrun og ganske klar, saa lysebrun, derefter lysegul og endelig ganske ufarvet og vandklar. For at naa hertil, vil det imidlertid som oftest være nødvendigt,

at fortsætte Opvarmningen i særdeles lang Tid, indtil et Par Dage. Denne Affarvning kan dog i meget høj Grad paaskyndes, ved at blande den engelske Svovlsyre med noget rygende Svovlsyre, for at kompensere den førstes Overskud af Vand over Hydratvandet, og navnlig ved Tilsætning af noget Fosforsyreanhydrid.

Med en saadan Blanding af Svovlsyrehydrat og Fosforsyreanhydrid vil Opløsningens Farve i Regelen være bleven ganske lysebrun efter blot to Timers Opvarmning. At det herved ogsaa spiller en Rolle, om man har anvendt meget eller lidet Stof, er en Selvfølge. Forøvrigt har jeg overbevist mig om, at det i Regelen ingenlunde er nødvendigt at fortsætte Opvarmningen, til Vædsken har faaet denne lyse Farve, for at Ammoniakdannelsen skal blive fuldstændig. Idetmindste ved Æggehvidestofferne og deres Derivater, som er det, der overvejende hyppigst foreligger til Bestemmelse, viste det sig, at Opvarmning med engelsk Svovlsyre var tilstrækkelig, og at man fik lige saa høje Resultater, ved at standse denne, medens Vædsken endnu var ganske sort, som ved at fortsætte den, til den blev lysebrun. Imidlertid gives der andre Stoffer, hvis Kvælstof holdes mere haardnakket bundet (jvfr. pag. 14), og, hvor saadanne kunne antages at foreligge, gjør man derfor bedst i at vælge Arbejdsmaaden med Fosforsyreanhydrid, hvor man altid i den indtrædende Affarvning har et sikkert Kriterium paa, at Svovlsyrens Virkning er tilende. At Glasset herved angribes meget stærkere, end ved Anvendelse af Svovlsyre alene, maa her fremhæves.

Ved Svovlsyrens Indvirkning gaa nu alle organiske Stoffer, Æggehvidestoffer, Kulhydrater, aromatiske Forbindelser o. s. v., uden Undtagelse i Opløsning, som kun efter Opvarmningens Varighed er mer eller mindre klar, mer eller mindre farvet. Ogsaa dette er en Omstændighed, der taler meget til Gunst for den nye Methode. Ritthausen, der har en saa stor Erfaring i Analysen af kvælstofholdige Stoffer, fremhæver gjentagende Nødvendigheden af at anvende den yderste Findeling af Æggehvidestofferne, forinden de underkastes Forbrændingsanalysen, og fremhæver tillige, hvor besværligt et Arbejde dette i mange Tilfælde kan være. Jeg har flere Gange havt Lejlighed til at gjøre den samme Iagttagelse om Nødvendigheden af en saadan Findeling og ofte funden, at man, ved at drive denne endnu et Skridt videre, ogsaa opnaaede endnu et lille Plus i Udbyttet af Kvælstof. Forholdet er ganske vist ikke aldeles konstant; undertiden kan man ved et Materiale faa ligesaa meget, naar man brænder det noget grovere Pulver, som det allerfineste; undertiden er det modsatte, som sagt, Tilfældet. Hvorpaa denne Forskjel kan bero, er ikke godt at sige;

muligvis spiller den forskjellige Struktur og den forskjellige anatomiske Lejring af Æggehvidestofferne i de naturlige Plantedele en Rolle i denne Henseende. Men da man ikke i Forvejen kan vide, hvornaar det ene vil være Tilfældet og naar det andet, har jeg ved alle Forbrændingsanalyser gjort mig det til Regel at underkaste det paagjældende Stof en særdeles omhyggelig Findeling. Da dette, paa Grund af Faren for en Desagregation, ikke vel lader sig udføre paa et større Parti, har jeg i en meget rummelig Porcellainsmorter revet det afvejede Stof med Pulver af tungsmelteligt Glas eller end bedre med Kvartspulver, indtil det hele, Skaldelene medindbefattede, var reduceret til en støvfin Masse. Tilvisse et meget anstrængende og besværligt Arbejde, da det baade udfordrer en betydelig Kraftudvikling og en spændt Opmærksomhed paa, at intet gaar tilspilde!. Dette falder selvfølgelig ganske bort ved den nye Methode, hvor man blot behøver at fremstille et Pulver, der er fint nok, til at man kan være sikker paa at faa en rigtig Gjennemsnitsprøve. Den øvrige Findeling besørges da ved Svovlsyrens Indvirkning paa en langt radikalere Maade end ved den aller omhyggeligste Pulverisation. Selv hele Korn kunne let analyseres paa denne Maade.

Ved Opvarmningen med Svovlsyre er allerede den største Del af Omdannelsen fuldbyrdet. Mange Stoffer afgive allerede paa denne Maade alt deres Kvælstof, eller næsten alt, i Form af Ammoniak. Saaledes Urinsyre, Asparagin, de let dekomponible Gluten-Protëinstoffer o. fl. Andre Æggehvidestoffer og idethele andre Stoffer indenfor de fede Legemers Gruppe afgive idetmindste paa denne Maade den ganske overvejende Mængde af deres Kvælstof, 90—95 %, eller der omkring. Ved Stoffer, der tilhøre den aromatiske Gruppe, holdes Kvælstoffet derimod mere haardnakket tilbage i den organiske Forbindelse. Dette er allerede Tilfældet, hvor det endnu er tilstede som Amid, som f. Ex. i Anilinsalte, idet Forbindelsen mellem Benzolkjærnen og Amidgruppen er langt vanskeligere at ophæve, end mellem denne og den aabne Kulstofkjæde. Men endnu langt mindre Omfang faar Ammoniakdannelsen ved Svovlsyrens Indvirkning, naar vi gaa over til Stoffer, i hvilke Kvælstoffet maa antages bundet paa ikke amidagtig Vis. Saadant har man antaget for mange Alkaloiders Vedkommende, ved hvilke der er Sandsynlighed for, at Kvælstoffet indgaar som Led i selve Benzolkjærnen. I Overensstemmelse hermed finder man da ogsaa her Ammoniakdannelsen ved Opvarmning med Svovlsyre at være yderst ufuldstændig. Naar man saaledes, for at nævne et Exempel, behandlede lige Mængder almindeligt Albumin, Morfin og Kinin i

lige lang Tid med ligemeget Svovlsyre, fik man af Albuminets Kvælstof de 92 % som Ammoniak, af Morfinets kun 40 % og af Kininets endogsaa kun 25 %. Af alle de Forbindelser, jeg har undersøgt, var forøvrigt Kininet det, der vanskeligst dekomponeredes ved den nævnte Proces. Ved Kafféin var Ammoniakdannelsen derimod under de samme Omstændigheder atter temmelig fuldstændig, hvilket stemmer med, at Kafféin, som dets nys fuldbyrdede Synthese af Xanthin viser, hører hjemme mellem de fede Legemer og ikke mellem de aromatiske. Man vil altsaa se, at vi i den mer eller mindre fuldstændige Ammoniakdannelse ved Indvirkning af varm, koncentreret Svovlsyre have et ret interessant Middel til at bedømme den Fasthed, hvormed Kvælstoffet er bundet i de organiske Forbindelser.

Det er værdt at lægge Mærke til, at den Lethed, hvormed Kvælstoffet afspaltes som Ammoniak ved Svovlsyrens Indvirkning, slet ikke synes at staa i noget Forhold til det Omfang, som Ammoniakdannelsen naar ved de samme Stoffers Iltning med manganoversurt Kali i alkalisk Opløsning efter Wanklyns Methode. Asparagin afgiver vel saaledes ved begge disse Behandlingsmaader alt sit Kvælstof som Ammoniak, Urinsyre giver derimod ved Wanklyns Proces kun en Sjettedel af sit Kvælstof som Ammoniak, medens det hele let omdannes hertil ved Svovlsyre. Kafféin afgiver til Svovlsyre næsten alt Kvælstof, medens det ved Destillation med Kali og manganoversurt Kali kun giver en Fjerdedel deraf. Omvendt afgiver Kinin, der saa vel modstaar Svovlsyren, ved den anden Behandling en langt større Procentmængde af sit Kvælstof (57) som Ammoniak, end mange Stoffer, som vi her betegne som de lettest dekomponible.

Efter tilstrækkelig Indvirkning af Svovlsyren skrider man til Iltningsprocessen. Denne foretages med manganoversurt Kali, der i sin Virkning her staar langt over alle andre Iltningsmidler. Jeg har prøvet flere saadanne, f. Ex. tvechromsurt Kali, men altid funden, at de paa ingen Maade kunne erstatte det manganoversure Kali, idet Ammoniakdannelsen ved dem altid forblev ufuldstændig. Permanganatet anvendes i Form af et tørt, nogenlunde fint Pulver; da Virkningen er særdeles voldsom, maa det kun tilsættes i smaa Portioner ad Gangen, som man imidlertid godt kan lade følge saa hurtig som muligt ovenpaa hverandre, da Reaktionen forgaaer saa at sige momentant. Pulveret bør derfor tilføres i en fin, men kontinuerlig Strøm, hvilket kan opnaas paa flere Maader. Længe hjalp jeg mig med en Glasspatel, som holdtes over Flaskens Munding, og hvorpaa Pulveret var anbragt. Ved passende smaa Slag

herpaa bragtes Pulveret nu til at falde ned i Syren, men da man dog paa denne Maade let er udsat for, at der kommer formeget med ad Gangen, har jeg senere benyttet mig af en lille Bøsse, som enhver let kan forfærdige sig, og som yder god Tjeneste. Den bestaaer af et omtrent Tomme-vidt Glasrør, som forneden gaar jævnt over i et kort, snævrere Rør — f. Ex., den øverste, afsprængte Del af et almindeligt Svalerør. I Bunden af det videre Rør anbringes et Stykke Metaltraadsnet af passende Finhed, ovenpaa hvilket Pulveret af Permanganatet anbringes. Ved nu at holde denne Bøsse over Mundingen af Kogeflasken og banke let derpaa, vil man bekvemt opnaa, at Pulveret i den rette Takt drysser ned i Syren. Iltningen skal foretages paa den varme Vædske, dog fjærner man Lampen, saalænge selve Tilsætningen af Pulveret finder Sted; i Regelen er denne tilendebragt i en Brøkdel af et Minut. Reaktionen er, som oftere berørt, yderst voldsom, ledsaget af Forpufninger og Udstødelsen af en stærk, hvid eller grøn Røg, ligesom man ofte ser smaa Flammer bryde frem af Vædsken. Ved saa heftige Fænomener paatrænger den Tanke sig uvilkaarlig, at der maa finde Dekompositioner af Ammoniak Sted. Imidlertid har en paa flere hundrede Forsøg støttet Erfaring vist, at der ikke nogensinde lides Tab paa dette Punkt af Arbejdet, selv om man foretager Iltningen saa hurtigt, som det vel lader sig gjøre (jvfr. ogsaa pag. 8).

Permanganatet skal, som sagt, tilsættes i Overskud. Hvornaar dette er naat, ses meget let af de Farveforandringer, som ledsage Processen. Vædsken, der oprindelig i Regelen var sort eller brun, bliver ved Tilsætning af Iltningsmidlet hurtigt lysere, dernæst ganske ufarvet og ved yderligere Tilsætning smuk grøn, eller, ved Anvendelse af Fosforsyreanhydrid, blaagrøn. Denne grønne Farve skyldes dog alene Pulveret, som nu tilsyneladende ikke opløses mere, Vædsken har, som det ses, naar det hele har klaret sig ved nogen Henstand, en violet Farve. Begge Dele pege hen paa, at det er Mangantveiltesalt, som her har dannet sig. Naar den grønne Farve er indtraadt, er Iltningen forbi. I Almindelighed har jeg derefter plejet at lade Kogeflasken henstaa endnu i 5—10 Minutter over en ganske svag Flamme, uden at dette dog vistnok bør tilskrives synderlig Betydning. Derimod maa man vel vogte sig for paany at varme Blandingen stærkt, efter at den grønne Farve er kommen frem. Der indtræder da under stærk Iltudvikling Reduktion til Manganforiltesalt, idet Vædsken paany bliver lys, noget, jeg oftere har havt Lejlighed til at se forbundet med et kjendeligt Tab af Ammoniak.

Iltningen kan forøvrigt blive ligesaa fuldstændig, naar Pulveret sættes til den noget afkjølede Vædske; men man er da meget udsat for, at der, istedetfor de mange smaa Forpufninger, indtræder en samlet Explosion, hvorved Kogeflaskens Indhold slynges ud af denne.

Efter Afkjøling fortyndes med et Par Dele Vand, hvorved den grønne Farve øjeblikkelig forsvinder og giver Plads for en brun, og, efter ny Afkjøling, bringes derpaa Indholdet af Kogeflasken i Destillationsapparatet, der hensigtsmæssigt kan indrettes paa følgende Maade. En rummelig Kolbe (paa $^1/_2$—1 Litr.) tjener til at optage Analysen; i Halsen passer en Kautschukprop med en skraat opadstigende Opsats (et »Næb« f. Ex., som man bruger ved Destillationer), der skal tjene til at forhindre Stænk fra at gaa over i Destillatet. Hermed er atter forbundet et lille, spiralformigt Svalerør, til hvis nederste Ende slutter sig Forlaget, der indeholder Syren, som skal optage Ammoniaken. Som Forlag anvendte jeg tidligere det almindelige Absorptionsapparat med 3 Kugler, men senere, da Erfaringen viste, at det lod sig gjøre, har jeg, hvad der er ulige bekvemmere, simpelthen anvendt en lille Kogeflaske paa omtrent $^1/_4$ Litr., som indeholder den titrerede Syre. Ved Hjælp af en dobbelt gjennemboret Kautschukprop hænger denne Flaske paa Svalerøret, som gaar omtrent midt ned i Flasken, uden dog at naa Syren. Gjennem den anden Aabning i Proppen fører et Rør umiddelbart ud i Luften. Talrige Forsøg med rene Ammonsalte have vist, at Absorptionen paa denne Maade er ligesaa fuldstændig som ved Anvendelse af Kuglerøret. Ved Benyttelse af Svalerøret foregaar der forøvrigt allerede deri en saa fuldstændig Fortætning af Ammoniaken, at man endogsaa kan lade Forlaget fra først af være tomt og tilsætte Syren efter endt Destillation, uden at lide noget kjendeligt Tab. Den nævnte Disposition er fordelagtig af den Grund, at man kan udføre Titreringen i selve Forlaget og saaledes slipper for al Omheldning og Udskylning.

Da der er en saa anselig Mængde Syre at neutralisere, maa man hertil benytte en meget stærk Natronlud, for ikke at spilde Tid, ved at skulle destillere store Rumfang af Vædske. Her have vi bestandig anvendt en Lud, der var tilberedt af 1 Del Natronhydrat og 2 Dele Vand. Den har da en Vægtfylde af omtrent 1,3, og man vil deraf behøve omtrent 40 Kub. Centimeter til Neutralisation, naar man har taget 10 Kub. Centimeter stærk Svovlsyre. Det er saaledes en ret betydelig Mængde Natron, der her gaar med, hvilket dog ikke spiller nogen Rolle, da man meget vel kan

anvende en simpel Vare, naar blot Opløsningen er godt udkogt i Forvejen, saa at den er fri for Ammoniak.

Da Destillerkolbens Indhold er en stærkt koncentreret Opløsning af svovlsurt Natron med Natron i Overskud og udskilte hydratiske Ilter, er der alle Betingelser tilstede for, at Vædsken skal støde stærkt under Kogningen. Dette sker da ogsaa med en saa overordentlig Voldsomhed, at Destillationen, naar man ikke tager Forholdsregler derimod, saa at sige umuliggjøres. Anvendelse af Platinstumper hjælper ikke meget i dette Tilfælde; saasnart det ved dem adhærerende Luftlag er kogt bort, hvad der meget snart indtræder, begynder Stødningen igjen med fornyet Livlighed, saa at Enden derpaa i Regelen bliver, at Kolben sønderslaas. Omsider fandt jeg dog et meget simpelt Middel til ganske at forebygge denne Ulempe. Man behøver nemlig blot, forinden Tilsætningen af Natron, at bringe nogle smaa Stykker Zinkblik ned i Vædsken; der vil da i den alkaliske Vædske foregaa en ringe Brintudvikling fra Zinken, og da der, som bekjendt, ingen Stødning finder Sted i Vædsker, hvori der er Luftudvikling, vil Kogningen nu foregaa aldeles roligt, selv over en meget kraftig Flamme. Først henimod Slutningen, naar Vædsken er indkogt meget stærkt, begynder Stødningen paany, rimeligvis naar Koncentrationen er bleven en saadan, at Saltet begynder at udskille sig i Varmen. Naar dette Punkt er naat, vil imidlertid ogsaa al Ammoniak forlængst være dreven over i Forlaget. Den høje Temperatur, hvorved den stærke Saltopløsning koger, bidrager i det hele taget til, at Ammoniaken drives langt hurtigere over, end ved Destillation af mere vandige Opløsninger.

Rumfanget af Vædsken i Destillerkolben vil fra Begyndelsen i Regelen være 120—150 Kub. Centimeter, hvoraf noget over Halvdelen destilleres over. Med en kraftig Gasflamme er Destillationen tilendebragt i mindre end et Kvarter. Har man flere Analyser at udføre, bør man altid have to Destillationsapparater; flere end tre vil man ikke kunne passe samtidig.

Naar Analysen og Zinken ere bragte i Destillationskolben, heldes altsaa det i Forvejen afmaalte Kvantum Natronlud hastigt ned, hvorefter Proppen uden Tøven sættes i og Lampen tændes. Forsøg med Ammonsalte have noksom vist, at man ikke behøver at frygte for, at der skal undslippe Ammoniak i det Øjeblik, hvori denne Operation staar paa, hvorfor man ikke behøver at træffe særlige og tidsspildende Foranstaltninger for Tilsætningen af Natronluden, saasom at lade denne tilflyde fra en i Destillerkolbens Prop anbragt Pipette.

At der ikke heller ved Zinkens Tilstedeværelse foranlediges noget Tab af Ammoniak, er ligeledes konstateret gjennem Kontrolforsøg[1]).

Hvad Bestemmelsen af Ammoniaken angaar, da kan man foretage denne paa hvad Maade, man maatte foretrække. Jeg kan dog ikke andet end her gjøre opmærksom paa en Methode, jeg saa godt som altid har anvendt, og som synes mig at yde særdeles meget i Retning af Bekvemhed og Nøjagtighed. Methoden er forøvrigt alt gammel og findes beskreven i Mohrs »Lehrbuch der Titriermethode«, 5te Aufl., pag. 315, men synes med Urette at være gaaet i Forglemmelse. Den beror paa den bekjendte Reaktion, at, naar man til en Blanding af jodsurt Kali og Jodkalium sætter en Syre, udskilles der efter Skemaet

$$KJO_3 + 5KJ + 3H_2SO_4 = 3K_2SO_4 + 3H_2O + 3J_2$$

en med Syremængden ækvivalent Mængde Jod, som derpaa kan titreres med svovlundersyrligt Natron. Da denne Titrering, med Stivelsevand som Indikator, som bekjendt i Skarphed næppe naas af nogen anden, kan man ogsaa paa denne Maade faa Syremængden nøjagtigere bestemt end ad nogen anden Vej. Dette gjælder dog kun ved meget stærke Syrer, som f. Ex. Svovlsyre, hvor den omtalte Reaktion øjeblikkelig indtræder i sit fulde Omfang, og det selv ved meget store Fortyndinger. Ved svage Syrer, som Eddikesyre og Mælkesyre, tager dette idetmindste meget lang Tid, om det i det hele nogensinde sker fuldstændigt.

Men af denne Titrerings Skarphed følger da atter, at man kan arbejde med meget fortyndede Normalvædsker, og deraf igjen, at man kun behøver at tage meget lidt Stof, hvilket allerede er en stor Fordel ved Forbrændingsanalyser, men ved den nye Methode næsten en Nødvendighed. Som jeg allerede tidligere har berørt, skal man nemlig anvende en betydelig Mængde Svovlsyre i Forhold til det organiske Stof, idet man allerede ved 1 Grm. heraf til 10 Kub. Centimeter Svovlsyre har ondt ved at faa det hele opløst uden Tab, og dog kan det hyppigt ved Analysen af kvælstoffattige Æmner, som Kornsorter f. Ex., være heldigt at arbejde med 1 Grm. og derover ved den sædvanlige Styrke af Normalvædskerne, for at faa et nogenlunde passende Antal Kub. Centimeter neutraliserede af den udviklede Ammoniak. Paa den anden Side er det meget ubekvemt, at skulle forøge Mængden af Svovlsyre; det vilde

[1]) Jvfr. Gmelin-Kraut: Handbuch der Chemie, 1 Bd., 2 Abth., pag. 505, L. 13 f. o. o. flg.

være heldigere, om man kunde formindske Mængden af Analysen. Nu er Syretitreringen ad den jodometriske Vej saa særdeles skarp, at man, ved Anvendelse af en Tyvendedel normal Opløsning af svovlundersyrligt Natron, aldrig er i Tvivl om en Draabe mer eller mindre. Som Følge deraf kan man ogsaa nøjes med en meget lille Mængde Stof til en Analyse. Jeg plejer at bringe 30 Kub. Centimeter Svovlsyre i Forlaget; dennes Styrke er i og for sig ligegyldig, naar blot dens Titre paa Hyposulfitopløsningen er nøjagtig bekjendt; imidlertid er det dog bekvemmest, at ogsaa Syren gjøres en Tyvendedel normal. Mængden af Analysen lader jeg da rette sig efter dens Indhold af Kvælstof, der jo i Almindelighed indenfor visse, vide Grændser vil være kjendt i Forvejen, og jeg vælger da denne Mængde saaledes, at Produktet af Kvælstofprocenten og Analysen i Gram bliver mellem 1 og 2. Den heraf dannede Ammoniak vil da kunne neutralisere mellem 14 og 28 Kub. Centimeter Syre, og, da man nu kan titrere denne med en Skarphed af $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ Kub. Centimeter, ser man, at Nøjagtigheden ved Titreringen bliver mer end tilstrækkelig.

Paa denne Maade vil man altsaa, selv ved temmelig kvælstoffattige Stoffer kunne nøjes med betydelig mindre end 1 Grm. til en Analyse. Ved Byg f. Ex., der i Gjennemsnit indeholder 1,5 % N, vil det være passende at afveje omtrent 0,7 Grm., ved mere koncentrerede Foderstoffer med omkring 5 % N kan man tage $^1/_4$ Grm. Kommer man op til meget kvælstofrige Æmner, som rene Æggehvidestoffer eller sligt, faar man jo rigtignok paa denne Maade lovlig lidt at veje af. Man kan da lægge mere Syre for, man kan bruge stærkere Normalvædsker, eller, da det er bekvemmest altid at arbejde med de samme, kan man afveje den firedobbelte Mængde, fylde den iltede Blanding op til 100 Kub. Centimeter og deraf udtage 25 Kub. Centimeter til Destillationen. At man omvendt ved Analysen af Stoffer, hvori Kvælstof maa siges kun at forekomme som Spor, Træ f. Ex., maa nøjes med en ringere Stofmængde, end man skulde tage efter den ovenstaaende Regel, er en Selvfølge. Selv her vil man dog, uden at gaa højere end til 1 Grm., kunne opnaa en tilfredsstillende Nøjagtighed.

Ved Udførelsen af Titreringen anvender man bedst Jodkaliumet i fast Form, da det er saa yderst let opløseligt; man kaster blot et Par smaa Krystaller ned i Vædsken. Det tungere opløselige jodsure Kali benytter man derimod helst som en Opløsning paa omtrent 4 %. Af Stivelsevandet tilbereder man sig en større Portion, som man mætter med Klornatrium, og sparer ikke der-

paa. At Titreringens Skarphed meget afhænger af dettes gode Beskaffenhed, bringes her i Erinding. Jodkaliumet bør tilsættes først, dernæst Stivelsevandet og tilsidst det jodsure Kali.

Naar den blaa Farve ved Tilsætning af den sidste Draabe Hyposulfitopløsning er forsvunden, vender den snart efter tilbage paany. Dette skyldes Indvirkningen af Luftens Kulsyre, idet en Blanding af jodsurt Kali, Jodkalium, Stivelseopløsning og rent Vand ligeledes efterhaanden farves blaa ved Henstand i Luften, medens man derimod kan holde Blandingen ufarvet, ved at lukke Flasken med en Prop, hvori der er anbragt et Absorptionsrør med Natronkalk. Denne Omstændighed volder forøvrigt slet ingen Ulempe, naar blot Titreringen ikke udføres altfor langsomt. I hvert Tilfælde er Kulsyren her til langt mindre Hinder, end Tilfældet er ved den almindelige Syretitrering med Normal-Alkali.

Beregningen af Analyserne er meget simpel, idet man blot, ved Anvendelsen af en Tyvendedel normal Hyposulfitopløsning, multiplicerer de til den neutraliserede Syre svarende Kub. Centimeter med 7 (Kvælstoffets halve Ækvivalent) og dividerer det fremkomne Tal med Analysen (udtrykt i Centigrammer); man har da Procent Kvælstof. Ønsker man at undgaa den nævnte Multiplikation med 7, kunde man ogsaa anvende en $^7/_{200}$ normal Hyposulfitopløsning; man behøver da blot at dividere de nævnte Kub. Centimeter med Analysen, for at finde Kvælstofprocenten. Til yderligere Oplysning hensættes endnu et Par Exempler:

Man har en $^1/_{20}$ normal Hyposulfitopløsning. Svovlsyren, der bringes i Forlaget, er ligeledes $^1/_{20}$ normal; altsaa 30 Kub. Centimeter Svovlsyre = 30,0 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning.

Som Kontrolforsøg tages 0,5 Grm. rent Sukker + 10 Kub. Centimeter koncentreret Svovlsyre. Efter Destillation, med 30 Kub. Centimeter $^1/_{20}$ normal Svovlsyre i Forlaget, tage disse kun 29,8 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning, hvilket Tal altsaa skal bruges ved de paafølgende Analyser istedetfor 30,0.

0,645 Gram Byg behandledes paa samme Maade. Der titreredes tilbage med 14,5 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning. 29,8—14,5 = 15,3 Kub. Centimeter; $\frac{15{,}3 \cdot 7}{64{,}5} = 1{,}66\,\%$ N.

0,982 Grm. Træ behandledes paa samme Maade. Der titreredes tilbage med 27,3 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning. 29,8—27,3 = 2,5 Kub. Centimeter; $\frac{2{,}5 \cdot 7}{98{,}2} = 0{,}18\,\%$ N.

0,440 Grm. Kaseïn behandledes paa samme Maade, dog saaledes, at den iltede Blanding blev fyldt op til 100 Kub. Centimeter og

deraf blev 25 Kub. Centimeter udtaget til Destillation. Der titreredes tilbage med 5,8 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning. 29,8—5,8 = 24,0; $\frac{24{,}0 \cdot 7}{44{,}0} \cdot 4 = 15{,}3$ % N.

En Fordel ved denne Titrering er det endnu, at den lader sig udføre ganske med samme Skarphed ved Lampelys, som om Dagen. Det eneste, der er at indvende imod den, er, at den stærkt fortyndede Hyposulfitopløsning er lidet holdbar. Den maa derfor jævnligt prøves, enten paa den Tiendedel normale Jodopløsning eller paa den altid uforanderlige Svovlsyre, en Prøve, som kun er et Øjebliks Sag. Naar man kjender Titren af sit faste, svovlundersyrlige Natron, er det forøvrigt gjort paa faa Minutter at tilberede en Litre frisk Opløsning.

Forøvrigt kan man, som forhen fremhævet, bestemme Ammoniaken ad hvilkensomhelst anden Vej, ogsaa som Platinsalmiak. At Platinmethoden her giver overensstemmende Resultater med Titreringen, viser, at det virkelig er Ammoniak, der er dannet ved Iltningen, og ikke forskjellige Aminer. Som en Fordel ved den nye Methode maa det her fremhæves, at man har med en ren, vandig Opløsning af Ammoniak at gjøre, hvad der meget letter Bestemmelsen, navnlig ved Titrering, i Sammenligning med Forbrændingsanalysen, hvor Vædsken i Forlaget saa ofte er farvet og uklar af forskjellige andre Forbrændingsprodukter.

Beviset for Methodens Paalidelighed har jeg søgt at tilvejebringe dels ved Analysen af forskjellige, rene Stoffer med bekjendt Indhold af Kvælstof, dels ved Undersøgelsen af en stor Mængde Stoffer af dyrisk eller vegetabilsk Oprindelse, med hvilke jeg da samtidig har udført Kontrolbestemmelser efter Will og Varrentrapps Methode. Nedenstaaende Udvalg af disse Analyser vil være tilstrækkeligt til at give et Begreb om den Nøjagtighed, man her kan vente at opnaa:

Rene Stoffer.	Bestemt efter den nye Methode.	Beregnet.
Saltsurt Triæthylamin	10,16 % N.	10,18 % N.
Asparagin	18,7 —	18,67 —
Urinsyre	33,1 —	33,3 —
Urinstof	46,6 —	46,7 —
Saltsurt Anilin	10,65 —	10,82 —
Indigotin	10,60 —	10,68 —

Rene Stoffer.	Bestemt efter den nye Methode.	Beregnet.
Hippursyre	7,75 %N.	7,82 %N.
Saltsurt Morfin	4,21 —	4,36 —
Saltsurt Kinin	7,47 —	7,77 —
Kafföin	28,6 —	28,86 —
Blandinger.		**Fundet efter Will og Varrentrapps Methode.**
Kaseïn, askefrit	15,6 %N.	15,6 %N.
Albumin af Æg, do.	15,3 —	15,6 —
Konglutin af Mandler, askeholdigt	17,5 —	17,6 —
Amygdalin	3,01 —	3,03 —
Hvide Bønner	3,20 —	3,21 —
Squarehead-Hvede	1,94 —	1,96 —
Rug	1,46 —	1,47 —
Byg	1,33 —	1,33 —
do.	1,72 —	1,71 —
do.	1,53 —	1,55 —
Extrakt af Øl	1,10 —	1,12 —
— - Urt	0,81 —	0,83 —
Tørret Gjær	10,4 —	10,6 —
Oxekjød	12,49 —	12,43 —
Wittes Pepton	13,2 —	13,2 —

En Sammenligning af de to Talrækker viser, at der er den bedste Overensstemmelse tilstede, saavel mellem det beregnede Kvælstof-Indhold i de undersøgte rene Stoffer og det ved den nye Methode fundne, som mellem de Resultater, denne og Will og Varrentrapps Methode have givet ved de naturlige Blandinger. Kun ved enkelte Alkaloider naar man ikke det fulde Udbytte af Ammoniak; ved Morfin er der saaledes en Fejl paa 0,15 %, ved Kinin er Afvigelsen endogsaa 0,30 %, og endda er det kun efter en meget energisk Indvirkning af Svovlsyrehydrat og Fosforsyreanhydrid, at man har naat saa høje Resultater. Dette staar i Forbindelse med, hvad der pag. 15 er sagt om den stærke Binding af Kvælstoffet i Kininets Molekyl.

I Forbindelse hermed maa jeg gjøre et Par Bemærkninger om Bestemmelsen af Kvælstof i Alkaloider efter Will og Varrentrapp. Som bekjendt have Meningerne om denne Methodes Anvendelighed i dette Tilfælde været meget afvigende. I Fresenius' Zeitschrift für anal. Chemie, Bd. 4, 1865, pag. 322 findes saaledes en Afhandling af van der Burg, hvorefter man paa denne Maade skulde faa aldeles ubrugelige Resultater; i Kinin finder Forf. saaledes i forskjellige Forsøg 5,04 — 0,59 — og 2,85 % N istedetfor

8,64 % N. I 5te Bind (1866), pag. 197 af samme Tidsskrift finder man en Række Analyser af Meusel, udførte i Fresenius' Laboratorium paa de samme Stoffer og efter den samme Methode, der imidlertid i dette Tilfælde giver brugelige Resultater, 8,46 % N f. Ex. i Kinin istedetfor 8,64 % N. Da der ikke meddeles noget om Detaillerne ved Udførelsen, er det vanskeligt at klare, hvad Grunden kan være til en saadan Afvigelse. Jeg tror imidlertid at have funden, hvad der betinger, eller kan betinge, en saadan Forskjel, og mener, at denne maa søges i den Kanal, som man efter de fleste Forskrifter tilvejebringer foroven i Røret, ved at banke lidt derpaa, efter at man har fyldt det. Nu er, saavidt min Erfaring gaar, den overvejende hyppigste Grund til Fejl ved Will og Varrentrapps Methode en ufuldstændig Ammoniakdannelse, saaledes som Mulder allerede for over 20 Aar siden har fremhævet[1]), medens den Dissociation af Ammoniaken, som saa ofte senere er bleven fremdraget, næppe spiller en saa betydelig Rolle. Har man nu tilvejebragt en Kanal, stige de kvælstofholdige Luftarter og Dampe, som endnu ikke ere Ammoniak og som ikke tilbageholdes af Syren, umiddelbart op i Kanalen, uden at have passeret et kjendeligt Stykke ophedet Natronkalk, og vandre dernæst videre ad den aabne Bane og ud gjennem Absorptionsrøret. Hvilken Forskjel, der paa denne Maade kan fremkomme, ses meget slaaende af følgende 2 Parallelforsøg: Saltsurt Kinin, hvori 7,77 % N, blev forbrændt uden Kanal; Mængden af Ammoniak, bestemt ved Titrering, svarede til 7,75 %, altsaa aldeles nøjagtigt. En anden Analyse af samme Stof blev udført akkurat paa samme Maade, kun at man ved et lille Slag paa Røret, før det blev lagt i Forbrændingsovnen, tilvejebragte en aaben Bane foroven i dette. Resultatet blev her kun 2,8 % N, ligesaa falskt altsaa, som i van der Burgs Analyser.

Til yderligere Sikkerhed har jeg plejet at blande lidt Sukker i den rene Natronkalk, som lægges foran i Forbrændingsrøret. Denne sintrer ellers sammen i Heden, trækker sig tilbage fra Rørets Vægge og efterlader altsaa langs med disse en rummelig Vej, saa at den egentlig ingen Nytte gjør. Efter Sukkerets Forbrænding udgjør Natronkalken derimod en porøs Masse, som fylder Røret tæt op til Væggen, og hvorigjennem altsaa al den Luft, der senere udvikles ved Analysens Forbrænding, tvinges til at passere.

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 1, 1862, pag. 98, efter Chem. Centralblatt, 1861, pag. 44.

At dette Spørgsmaal særlig er fremkommet for Alkaloidernes Vedkommende, ligger naturligvis i den oftere omtalte faste Kvælstof-Binding, der gjør sig gjældende ved Forbrændingen, saavel som ved Dekompositionen med Svovlsyre. Ved Æggehvidestofferne, hvor Bindingen er løsere, og hvor der derfor maaske mere umiddelbart dannes Ammoniak ved Natronkalkens Indvirkning, kan man derfor ogsaa nok opnaa rigtige Resultater med Kanalen eller trods denne.

Endnu kun et at bemærke: Naar det i det foregaaende er fremhævet, at den her udviklede Methode er anvendelig paa alle organiske Forbindelser (med et vist Forbehold overfor enkelte Alkaloider), saa er det en Selvfølge, at derfra maa undtages saadanne, som indeholde Kvælstof i flygtige Forbindelser af sur eller indifferent Karakter, altsaa som Cyanforbindelser og som Kvælstofilter. Med Hensyn til disse sidste og særlig de salpetersure Salte er der dog en ret mærkelig Iagttagelse at gjøre. Man skulde jo nemlig vente, at, naar man efter den nye Methode analyserede et Stof, der havde en Del af sit Kvælstof tilstede som salpetersurt Salt, man da vilde finde Total-Kvælstofmængden minus det, der hører til Salpetersyren, idet man maatte forudsætte, at denne ved et Par Timers Opvarmning med et stort Overskud af stærk Svovlsyre til en Temperatur, der nærmer sig Svovlsyrens Kogepunkt, maatte blive fuldstændig uddreven. Dette er dog ingenlunde Tilfældet, idet ved Tilstedeværelsen af organisk Stof endogsaa den største Del af Salpetersyren reduceres til Ammoniak. Jeg blev første Gang opmærksom herpaa, da jeg forsøgte paa at analysere salpetersurt Strychnin, der indeholder 10,6 % Total-Kvælstof, hvoraf 7,05 % falder paa Alkaloidet. Ifølge den tidligere Erfaring fra Alkaloider maatte man her altsaa vente at finde lidt under 7 %, og jeg blev derfor ikke lidet overrasket, da jeg istedet herfor fandt 10,1 %, hvilket Plus alene kunde stamme fra Salpetersyren. Jeg overtydede mig derefter om, at, medens man, ved at behandle salpetersurt Kali for sig med Svovlsyre og Permanganat, naturligvis fandt 0 Kvælstof, fik man, ved i Forvejen at tilsætte 3—4 Gange dets Vægt rent Sukker, 60—70, ja indtil 80 %, alt eftersom Ophedningen blev ledet, af Salpetersyrens Kvælstof over i Destillatet som Ammoniak. Af denne Grund er det derfor sikrere ved det pag. 10 omtalte Kontrolforsøg at tilsætte noget rent Sukker til Syren, istedetfor at tage denne alene; saafremt nemlig den anvendte Svovlsyre skulde indeholde et Spor af Kvælstofilter, vil dette ikke give sig tilkjende i et Kontrolforsøg med ublandet Svovlsyre, hvoraf Kvælstofilterne ved Opvarmningen ville uddrives,

Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

II.

Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces.

(Hertil 3 Tavler.)

Hvad have vi hidtil vidst herom?

I 1868 offentliggjorde J. de Seynes Resultaterne af sine Dyrkningsforsøg med Mycoderma vini Desm.[1]) Tilfældigvis havde han iagttaget, at denne Art, naar den blev dyrket i Vin, som i tilstrækkelig Grad var blandet med Vand, da ikke blot var meget tilbøjelig til at danne langstrakte Celler, men at flere af disse atter i deres Indre kunde indeholde runde Celler. »Den olieagtige Plasmavædske,« siger han, »samler sig omkring smaa Kjerner i Cellens Indre, fine Granulationer optræde paa Overfladen af de herved opstaaede Legemer, og snart har en Membran udviklet sig. Modercellens Væg bliver imidlertid meget tynd og gjennemsigtig. I hver Modercelle dannes 1, 2 eller 3 af disse Endosporer. De blive frie derved, at Modercellens Væg brister«. Denne Udvikling sammenligner han med, hvad der finder Sted hos Algerne, og han bebuder at ville forfølge Spørgsmaalet hos de andre Gjærsvampe. Dette er dog ikke sket, rimeligvis fordi Reess kom ham i Forkjøbet

---

[1]) J. de Seynes, Sur le Mycoderma vini. (Comptes rendus, Tome LXVII, 1868, p. 105—109. Ann. des sc. nat. Botanique, 5 série, X, 1869, p. 5—9).

dermed. De Seynes fremhæver, at Cellerne af Mycoderma vini kun danne de omtalte Formeringsorganer, naar de dyrkes under mangelfulde Ernæringsvilkaar, hvorved deres rent vegetative Formering, Knopskydningen, hæmmes, f. Ex. i Vand eller i stærkt fortyndet Afkog af Sukker, Gummi o. s. v., og han udtaler, at hans Forsøg saaledes ogsaa staa i Overensstemmelse med, hvad der er Lov for de højere Planter.

Dette er den første Meddelelse, der i Literaturen foreligger om Sporer hos Gjærsvampe.

Omtrent samtidig hermed havde Reess i De Bary's Laboratorium og med denne berømte Botanikers Bistand begyndt at studere Saccharomyces-Arterne[1]). Ogsaa han opdagede de omtalte Sporer ved et rent Tilfælde uden egentlig at søge dem. For at erfare, om Celler af Øl-Undergjær skulde kunne udvikle en Skimmelform, bleve de udsaaede dels paa raa og dels paa kogte Skiver af Kartofler, Kaalrabi, Gulerødder o. s. v., ligeledes paa Klister, Gummiopløsning og Kjød og overhovedet paa forskjellige Næringssubstrater og derpaa dyrkede i et fugtigt Rum. I Stedet for Mycelium udviklede nogle af Cellerne imod Forventning Sporer i deres Indre. Udviklingsgangen heraf beskriver han paa følgende Maade: »Paa 5te Dagen efter Udsæden forsvinde Vakuolerne, og tæt, finkornet Protoplasma udfylder nu hele Rummet indenfor Cellevæggen. Snart optræde 2—4 rundladne Øer, som i Løbet af kort Tid omgives med en tynd Væg; denne tager til i Tykkelse, hvorimod Modercellens samtidig hermed svinder. En Modercelle med kun 1 Dattercelle hører til de sjældne Tilfælde.« Sporernes Udvikling opfatter han som fri Celledannelse, og i Følge hans Anskuelse stemmer den overens med, hvad der finder Sted hos lavtstaaende Askomyceter og da navnlig hos saadanne som Exoascus Pruni Fckl. Gjærcellens Endosporer blive derfor af ham kaldte Askosporer og Modercellen Askus. Efter at han saaledes, som han selv siger, paa en højst overraskende Maade havde fundet denne Fruktifikationsform, søgte han nu ogsaa i selve Ølbryggerierne og Gjærfabrikkerne at opdage den og komme paa Spor efter, under hvilke Betingelser den her kunde træde frem. Hans Bestræbelser i den Retning vare dog alle frugtesløse. Ved gjentagne Gange at udvaske Undergjær i et Bægerglas med saadan Forsigtighed, at han undgik en Skimmelvegetation, erholdt han derimod efter 3 Ugers Forløb en smuk Udvikling af Askosporer. Deraf slutter han,

---

[1]) Reess, Zur Naturgeschichte der Bierhefe, Sacch. cerevisiæ Meyen. (Botan. Zeitung, XXVII Jahrg., 1869, p. 105—118.)

at denne Dannelse vil indtræde paa de Steder, hvor Gjær af en eller anden Grund er kastet hen og en Tidlang holder sig fri for Skimmel. At Sagen ikke er saa simpel, som Reess her tager den, ved Enhver, der har studeret Spørgsmaalet nøjere. Han beskriver derpaa Sporernes Spiring. Under denne udvikles der sædvanlige, knopskydende Gjærceller, men hverken Mycelium eller nogen Skimmelform.

Om Maaden, hvorpaa Forsøgene bleve udførte, fremhæves p. 113, at der ikke blev taget nogensomhelst Forsigtighedsregel for at opnaa en Renkultur. Som Standpunktet i Mykologien og Gjæringsfysiologien for Øjeblikket er, lyder denne Tilstaaelse underlig, og se vi rigtig efter Sammenhængen, hvori den staar, erfare vi endog, at der ligger en Udfordring deri. Da Reess for 14 Aar siden skrev dette, vare Forholdene imidlertid ganske anderledes end nu. Der blev da, navnlig gjennem Hallier og hans Kreds, drevet meget Uvæsen med saakaldte Renkulturer og dertil hørende Apparater, og der arbejdedes paa en aldeles kritikløs Maade. Gjærsvampe, Skimmelsvampe og Bakterier udviklede sig i vedkommende Apparat, den ene Form af den anden, man bildte sig ind at se det, og Apparatet antoges at skjærme for Vildfarelser. Saa kom den Reaktion, hvortil Reess hører; den vil i sin Iver ikke have noget med Renkulturer at bestille og begaar saa selv netop derved grove Fejl. Ville vi nemlig i vore Undersøgelser over Mikroorganismer sikre os Udgangspunkterne, saa maa vi fremfor Alt kunne adskille Formerne fra hverandre og under vort Arbejde med dem holde hver for sig i fuldstændig rene Kulturer; uden dette er ingen exakt Forskning mulig paa dette Omraade.

Da Reess bestandig arbejdede med urent Materiale, kunne vi i det Højeste kun vente, at visse Hovedtræk i hans Undersøgelser ere rigtige. Hertil hører navnlig, at han har iagttaget Askosporer hos Gjærceller og meddelt Dyrkningsmaader, ved hvilke de kunne udvikles. Men hans Iagttagelser knytte sig derimod næppe, som han selv mener, til Øl-Undergjæren; Alt viser tvertimod hen til, at han slet ikke har iagttaget Askosporer hos denne, men derimod hos en eller rimeligvis flere vilde Gjærarter.

Aaret efter udgav Reess sine samlede Studier over Alkoholgjærsvampene i en selvstændig Bog[1]). Om selve Askosporedannelsen meddeles intet Nyt af nogen Betydning. Der udtales, at den vistnok begunstiges af lave Temperaturer. Mine Under-

---

[1]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870.

søgelser have senere vist, at det Modsatte netop er Tilfældet. Om Øl-Overgjær giver han den løjerlige Meddelelse, at han kun igjennem en særegen Dyrkningsmaade opnaaede at faa dens Celler til at danne Askosporer og da endog kun meget sparsomt. I 8 Dage maatte nemlig den omtalte Overgjær dyrkes i Ølurt ved den laveste Undergjæringstemperatur, og efterat Cellerne paa denne Maade vare komne til aldeles at ligne Undergjærens, bleve de som sædvanlig udsaaede paa Gulerodsskiver, hvor meget faa af dem udviklede Askosporer aldeles af samme Art som dem, han mener at have iagttaget hos Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ.

Ligesom i de fleste Undersøgelser, der foreligge om Saccharomyces-Arterne, mangler der ogsaa i denne fast Bund. Den typiske Overgjærs Celler ere netop i Almindelighed villige til at danne Askosporer, og hans Forsøg paa først at omdanne Overgjæren til Undergjær vare overflødige, ja kunde slet ikke føre til nogetsomhelst Resultat. Hos alle de af ham opstillede Arter med Undtagelse af Sacch. apiculatus beskriver han Askosporer og opfører i nogle Tilfælde disses Maal som Karakterer; et nøjere Studium viser imidlertid, at der slet ikke i Naturen findes saadanne Grændser, som dem Reess angiver. Dette gjælder overhovedet om de systematiske Karakterer, hvorved han mener at kunne skjelne mellem Arterne. Ogsaa hos Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini Desm.) meddeler han ligesom J. de Seynes at have iagttaget Sporer.

Eidam var den Første, som drog Rigtigheden af de foregaaende Meddelelser i Tvivl[1]). Han siger herom, at saavel han selv som Andre bestandig med negativt Resultat have forsøgt efter Reess's Methode at fremstille disse Dannelser, og han antager, at Aarsagen hertil muligvis kunde søges deri, at Sporerne kun udvikle sig paa en bestemt Aarstid.

J. de Seynes's og Reess's Opdagelse havde, som rimeligt var, vakt megen Opmærksomhed, og allerede i 1872 udkom der fra fransk Side et større Arbejde over det samme Emne, nemlig af Engel[2]). Heri meddeles en forbedret Methode til Udviklingen af de ofte omtalte Sporer. Gjærcellerne udsaas paa den glatte Overflade af en Gibsblok, der derpaa anbringes i et Glas med Vand saaledes, at Overfladen med vedkommende Gjær holdes jævnt fugtig, og Glasset dækkes derefter med en Glasplade eller paa anden Maade. Forøvrigt giver dette Skrift ingen Oplysning af

---

[1]) Eidam, Der gegenwärtige Standpunkt der Mycologie, 1871, p. 30, zweite Auflage, 1872, p. 59—60.

[2]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

Betydning. Paa flere Steder indeholder det kun en tankeløs Gjentagelse af Reess's Resultater, og hvor Engel kritiserer denne, er han i Regelen uheldig. Om Sacch. apiculatus meddeler han, at han hos denne har opdaget en ny Fruktifikationsform, hvorved den skulde faa en vis Lighed med Protomyces macrosporus. Skjøndt han selv erkjender, at han ikke fik sine Forsøg i den nævnte Retning gjennemførte, er han dog saa dristig paa Grund af den nye Fruktifikationsform, som han mener maa være tilstede hos denne Art, at opføre den som Repræsentant for en ny Slægt, Carpozyma.

I en tidligere Afhandling[1]) har jeg allerede udtalt, at Engel's Meddelelse beror paa en Vildfarelse, og kan nu endvidere tilføje, at jeg ved senere atter og atter at gjentage og variere hans Forsøg er kommen til det bestemte Resultat, at Sacch. apiculatus ikke danner de af Engel beskrevne Fruktifikationsorganer. Arbejder man paa en unøjagtig Maade, som Engel har gjort, saa kan man vel i sine Gibsblok-Kulturer af og til finde Legemer, der ligne den af ham afbildede Protomyces-Fruktifikation, og disse optræde ikke blot i Dyrkningsforsøgene med den nævnte Saccharomyces-Art, men ere en ligesaa hyppig, udenfra kommende Indblanding ved Forsøgene med de andre Arter. Holdes Kulturerne derimod fuldstændig rene, saa optræde de ikke. Jeg har hidtil forgjæves forsøgt at bestemme, hvortil de høre, men at de ikke ere Udviklingstrin af Sacch. apiculatus er i Følge Ovenstaaende bevist. Engel's ny opstillede Slægt kan derfor ikke godkjendes. Et andet Spørgsmaal er det, om den lille citronformede Gjærsvamp, der ikke som de andre, til Slægten Saccharomyces hørende Arter danner Askosporer, med Rette kan stilles sammen med disse under en og samme Slægt. Det er imidlertid urigtigt at forøge Systematikens allerede overordentlig store Registre med nye Navne uden tvingende Nødvendighed, og en saadan er ikke endnu tilstede. Vor Viden om Saccharomyces-Arterne er i Øjeblikket alt for ringe til, at vi formaa at drage Grændserne. Den citronformede Gjærsvamp skal derfor indtil videre beholde sit gamle Navn, Sacch. apiculatus.

Af det Foregaaende erindres det, at J. de Seynes betegner Sporerne efter deres Dannelsesmaade som Endosporer og ikke som

[1]) Emil Chr. Hansen, Ueber Saccharomyces apiculatus. (Hedwigia, 1880, p. 75) og navnlig: Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I. B. 1881, p. 313.)



Reess indlod sig i nogen Drøftelse af, hvilken systematisk Plads, Slægten Saccharomyces i Følge den ny opdagede Fruktifikationsform maatte indtage. Paa samme Maade har Cienkowski i sine Studier over Mycoderma vini[1]) forholdt sig, ogsaa han kalder Sporerne, som han troer at have iagttaget hos denne Art, for Endosporer, men i Modsætning til de foregaaende Forskere mener han, at de ikke opstaa ved fri Celledannelse, men ved en Deling af hele Cellens Indhold. »Naar Cellerne forberede sig til Udvikling af Endosporer,« siger han, »bliver Indholdet tættere, og derpaa deler det sig i fire, i en Række liggende Skiver eller i ligesaa mange kileformede Partier.« (Hans Tab. II, Fig. 36. c. d. e.). I hans citerede Figurer ses der Antydning af Vægge, der ere i Færd med at udvikle sig, og der er næppe nogen Tvivl om, at han her har havt de Dannelser for sig, som jeg i mine efterfølgende Undersøgelser kalder Skillevægdannelser. (Se mine Fig. 1—5a). Disse ere imidlertid forskjellige fra den egentlige Askosporedannelse; denne foregaar hovedsagelig saaledes, som Reess har beskrevet den.

Imod den af Reess givne Tydning af Saccharomyces Sporernes morfologiske Betydning rejste Brefeld et Angreb [2]). Han opfatter Saccharomyces-Arterne som nær beslægtede med Mucor racemosus. »Naar Gjærcellen,« siger han, »befinder sig udenfor sin Næringsvædske og er udsat for Luftens direkte Paavirkning, udvikler den sig til et lille Sporangium med nogle faa Sporer, paa samme Maade som det sker med »Gemmedannelsen« hos den nævnte Mucor, naar den kommer i Berøring med Luften. Sporangiet hos denne er mere kompliceret bygget, og denne større Komplikation i Bygningen svarer til den højere Udvikling, som Mucor har opnaaet i Sammenligning med Saccharomyces.« Som Asci, mener han, kunne kun saadanne Celler opfattes, der ikke blot i deres Indre danne Sporer, men som tillige have udviklet sig af den kjønsløse anden Generation, der er fremgaaet af et befrugtet Askogon. Da der imidlertid hos Gjærceller hverken findes Askogon eller Kjønsakt overhovedet, slutter Brefeld ydermere heraf, at Saccharomyces-Arterne ikke kunne henregnes til Askomyceterne. Paa den Tid, han skrev dette, var der noget Berettiget i denne Betragtningsmaade; thi man antog den Gang, at der hos Askomyceterne overhovedet maatte findes de hos nogle faa Arter fornylig opdagede Kjøns-

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Petersborg Akademiets Bulletins, T. XVII, 1873.)

[2]) Brefeld, Mucor racemosus und Hefe. (Flora, 56. Jahrg. 1873, p. 385—399.)

organer. I Øjeblikket synes Forskningen derimod at have bevist, at der ogsaa iblandt fuldstændig typiske, højt udviklede Askomyceter findes et større Antal, hos hvilke Kjønsorganer aldeles mangle. Brefeld's Indvendinger have altsaa mistet den Gyldighed, som de tidligere tildels havde, og hvad den af ham fremførte nye Tydning angaar, ja, saa kan det Samme siges om den som om mange af de Systemer, hvorpaa Morfologien er saa overvættes rig: den er egentlig hverken bedre eller daarligere end den gamle. Der er Grunde, som tale for begge, men ikke saadanne, som give en sikker Afgjørelse til den ene eller anden Side, Spørgsmaalet er endnu bestandig flydende, og det vil ikke være vanskeligt ved Siden af Reess og Brefeld at opstille en tredie, ligesaa rimelig Tydning som disses. Foreløbig holde vi altsaa fast ved Reess's morfologiske Betragtningsmaade, da den har Aldersprioriteten, og opfatte Saccharomyces-Arterne som lavtstaaende Ascomyceter.

Reess anmeldte ovenstaaende Afhandling i Botan. Zeitung 1873, p. 777, og knyttede som Forsvar mod Angrebene nogle Bemærkninger hertil. Disse bragte imidlertid ingen virkelig Oplysning og viste kun, at han følte sig usikker.

Det var ikke blot i den botaniske Verden, at Reess's Bog med Iver blev studeret, men en ikke ringere Opmærksomhed blev ogsaa skjænket den af Gjæringsteknikerne. Tidsskrifterne for Gjæringsindustriens forskjellige Grene bære paa den Tid talrige Vidnesbyrd derom. Som oftest vare imidlertid de her offentliggjorte nye Bidrag, som Reess's Undersøgelser havde fremkaldt, ubetydelige og ikke sjælden aldeles værdiløse. I Blankenhorn's og Morits's Afhandling[1]) findes dog for første Gang den Oplysning, at en Gjærcelle ogsaa kan danne et større Antal Askosporer end 4; der beskrives og afbildes nemlig Celler hver med 5. Rigtigheden af denne Iagttagelse bekræftede David[2]), og han meddelte tillige, at man paa selve Objektglasset kan dyrke Gjærceller saaledes, at de udvikle Askosporer. Han anbragde vedkommende Gjærcelle paa dette i en Draabe Vand, som han derpaa dækkede med et Dækglas, og satte det Hele ind i et fugtigt Rum. Efter tre Døgns Forløb var der dannet Askosporer.

Reess havde ikke havt Lejlighed til nærmere at studere Brændevinsgjæren (Pressegjær), og en af Wiesner's Elever, Schu-

---

[1]) Blankenhorn und Moritz, Unters. über den Einfluss der Temperatur auf die Gährung. (Annalen der Oenologie, 3 B. 1873, p. 11.)

[2]) David, Ueber Rothweingährungspilze. (Annalen der Oenologie, 4 B. 1874, p. 223.)

macher, foretog derfor Undersøgelser i den Retning[1]). Det viste sig, at Pressegjærcellerne ogsaa formaa at udvikle Askosporer, og ene paa Grund heraf drager han nu uden videre den Slutning, at denne Gjærform maa være en Kulturform af Sacch. cerevisiæ. Af hans Maade at slutte paa vilde følge, at alle de andre af Reess opstillede askosporedannende Arter ligeledes maate henføres til denne ene Art. Ligesom de Foregaaende arbejdede ogsaa Schumacher med urent Materiale; flere af de forunderlige Angivelser i hans Afhandling finde heri deres naturlige Forklaring.

En ny Fremgangsmaade, ved hvilken Askosporerne ligeledes skulle kunne dannes, angives af Müntz[2]). Ved nogle kemiske fysiologiske Experimenter, som han i andet Øjemed anstillede med forskjellige Svampe, ledede han en Iltstrøm gjennem en Glykoseopløsning, hvori han dyrkede Ølgjær; de fleste af dennes Celler dannede herved Sporer. Jeg har en Gang foretaget nogle lignende Forsøg, men disse viste alle hen til, at Behandlingen med Ilt ingen Indflydelse havde. Undergjær af Sacch. cerevisiæ og en af de vilde Gjærarter, som høre til Gruppen Sacch. Pastorianus, bleve hver for sig anbragte dels i steriliseret Urt og dels i steriliseret Vand, og igjennem disse Vædsker blev der ledet en langsomt boblende Iltstrøm, i en Forsøgsrække i Løbet af 5 Timer, og i en anden i 1½ Time. Askosporer optraadte imidlertid ikke, ejheller efterat Vandkulturerne havde staaet 15 Døgn, og Gjæren i den Tid var bleven udvasket, som Reess angiver det, dog var den sidstnævnte Gjærart ellers meget villig til at danne disse Formeringsorganer. Samme to Gjærarter bleve ogsaa efter Engel's Methode udsaaede paa Gibsblokke og her samtidig med Forsøgene i Vædskerne udsatte for Iltens Paavirkning, men ligeledes uden kjendelig Indvirkning. Askosporerne optraadte som de plejede, hverken før eller senere, sparsomt og langsomt paa Blokkene med Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ, rigeligt og forholdsvis hurtigt paa Blokkene med den vilde Gjærart.

I 1875 offentliggjorde Brefeld en Række biologiske Iagttagelser[3]), som paa Grund af den livlige, opsigtvækkende Form, hvori

---

1) Schumacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (Aus dem LXX. Bande der Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. in Wien. I. Abth. Juni-Heft. Jahrg. 1874.)

2) Müntz, Recherches sur les fonctions des champignons. (Comptes rendus hebd. des séances de l'Acad. des Sciences 1875, T. 80, p. 178—181. Citeret efter Botan. Jahresbericht. 3 Jahrg p. 171.)

3) Brefeld, Beobachtungen über die Biologie der Hefe. (Sitzungsber.

de bleve meddelte, og paa Grund af de overraskende Nyheder, som de bragde, bleve grebne med stor Interesse og hurtig overførte i Lærebøger og populære Skrifter. Brefeld meddeler, at de ere Frugten af flere Aars fortsatte Studier. Hans Hypothese om Gjærsvampenes Kredsløb i Naturen har jeg imødegaaet i min foran omtalte Afhandling om Sacch. apiculatus, og af mine efterfølgende Undersøgelser ville Læserne efterhaanden kunne erfare, at hans Arbejde overhovedet ikke kan taale en kritisk Prøve. I nærværende Afhandling skal kun tales om, hvad der angaar Askosporerne hos Saccharomyces-Arterne. I Løbet af 2 Aar forsøgte Brefeld forgjæves efter Reess's Methode at bringe Celler af Kulturgjær (Øl-Over- og Undergjær samt Pressegjær) til at udvikle disse Fruktifikationsorganer.

»Det gjaldt nu,« siger han, »om at finde en naturlig Forklaring, og en Ledetraad blev da den Tanke, at den mangeaarige Kultur kunde have udøvet en skadelig Indflydelse paa denne Udvikling. Den dyrkede Gjær har nemlig under de i Industrien herskende Forhold ikke Lejlighed til at fruktificere, men forplanter sig udelukkende ved vegetativ Formering.« Ved at anbringe Celler af vild Gjær fra Vindruer paa Objektglas, som han derpaa hensatte i et fugtigt Rum, opnaaede han imidlertid bestandig allerede efter 24 Timers Forløb en rig Udvikling af Askosporer. De paa samme Tid anstillede Prøver med Kulturgjær bleve imidlertid ogsaa efter denne Fremgangsmaade frugtesløse. »Disse Forsøg,« mener han, »vise paa den skjønneste Maade, hvilken Forskjel der i Henseende til Fruktifikationen findes imellem den vilde, naturlige Gjær og Kulturgjæren, og da Aarsagen til denne Forskjel udelukkende maa søges i den Indflydelse, som Kulturen paa den ene Side har udøvet, saa følger heraf, at Naturracerne under Dyrkningen efterhaanden have mistet den Evne til at danne Fruktifikationsredskaber, som er ejendommelig for Stamformen. Aarsagen til, at de have tabt denne Evne, som de en Gang besade, kan næppe være nogen anden end den, at de i Industriens Tjeneste ere tvungne til kun at formere sig ad vegetativ Vej ved Knopskydning.«

Han angriber Reess's Methoder og fremhæver Dyrkningen paa Objektglasset som meget bedre. At David allerede tidligere har givet Oplysning herom, omtaler han ikke. Engels Arbejde synes ogsaa at være ham aldeles ubekjendt; han tager i hvert Fald ikke Hensyn dertil. Den morfologiske Tydning af Gjærcellens Frukti-

der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin. 16 März 1875. Botan. Zeitung 1875 p. 401).



fikation, som han for et Aar siden havde publiceret i Tidsskriftet Flora, gjentager han ogsaa her tilligemed de i den Anledning rettede Angreb paa Reess.

Brefeld's i det Foregaaende omtalte Theori er aldeles uholdbar. Jeg har nemlig med Sikkerhed paavist, at ikke blot vild Gjær men ogsaa Kulturgjær udvikler Askosporer. En rigelig og kraftig Formering i den nævnte Retning erholdt jeg endog med Lethed ikke blot af Overgjær (Sacch. cerevisiæ) fra kjøbenhavnske Brænderier og Pressegjærfabrikker, fra Forsøgsstationens Brænderi i Biesdorf, fra Helbing's Brænderi i Wandsbek og fra Mautner's Gjærfabrik i Wien, men tillige af den kraftige og typiske Overgjær, som i umindelige Tider har været dyrket i Edinburgh's Bryggerier. Sidstnævnte Gjær maa tilmed netop anses som et udmærket Exempel paa en rigtig gammel Kulturgjær. Overgjæringen paa de britiske Øer hører nemlig i Følge alle Efterretninger til den ældste Gjæringsindustri, vi kjende. Medens paa Fastlandet Undergjæringen efterhaanden har fortrængt den gamle Overgjæring i Bryggerierne, har den nemlig der indtil den nyeste Tid endog holdt sig som eneraadende. Ogsaa Øl-Undergjær, fandt jeg, formaar at udvikle Askosporer omend mindre villig end de foran omtalte Gjærformer. Det er følgelig slaaet fast, at Kulturgjær ligesaa godt som vild Gjær kan danne Askosporer. Paa den anden Side kan det ogsaa fremhæves, at jeg nu i henved tre Aar har dyrket Gjærsvampe af Gruppen Pastorianus i Urt i Carlsberg Laboratorium og i den Tid ved Knopskydning avlet endeløse Generationer, uden at det har været mig muligt at opdage Spor af Svækkelse i deres Evne til at danne disse Formeringsorganer, og jeg havde dog min Opmærksomhed særlig henvendt derpaa.

Brefeld foretog en længere Række Forsøg saavel med sædvanlige vegetative Gjærceller som med Sporerne for at erfare i hvilken Grad, de kunne taale Udtørring. Med en Vanddraabe bleve de anbragte paa Objektglasset og her overladte til Indtørringen. De vegetative Celler af Kulturgjæren havde allerede mistet deres Spireevne efter 14 Dages, den vilde Gjærs Celler derimod først efter 4 Ugers Forløb, og sidstnævntes Askosporer bevarede endog deres Livskraft i flere Maaneder. I disse Forsøg savne vi Oplysninger om den Tilstand, i hvilken Cellerne vare, da de bleve anbragte paa Objektglasset, om Forsøgene f. Ex. bleve gjorte med unge, kraftige Celler eller med gamle, med Celler avlede under samme eller under forskjellige Vilkaar. Vi savne endvidere navnlig Oplysninger om Temperaturforholdene, og disse spille her en meget stor Rolle, større end Brefeld vistnok har

tænkt sig. Medtagne Gjærceller, som ikke ved Værelsets vexlende Temperatur kunne komme til Live endog i den gunstigste Næringsvædske, formaa det, naar de under lignende Forhold udsættes for en nogenlunde konstant Temperatur af c. 27° C. Antage vi, at Brefeld i hvert Fald har anstillet sine Forsøg saaledes, at de kunne sammenlignes indbyrdes, saa have vi, omend ikke absolute dog relative Størrelser, som have deres Interesse. Betænkelighederne og Spørgsmaalene komme imidlertid dog atter frem overfor de to Rubriker, hvormed han opererer: Er al Kulturgjær virkelig det Samme? Er der ingen Forskjel paa vild Gjær? Skjules der ikke under disse Navne hver for sig forskjelligartede Racer eller Arter med forskjellige fysiologiske Ejendommeligheder?

Om Gjær, som i nogenlunde tykke Lag er lufttørret, vide vi gjennem flere Forskeres overensstemmende Forsøg, at de vegetative Celler deri i flere Maaneder kunne bevare deres Livskraft. Forholdene ere imidlertid her, maa vi erindre, anderledes end i Brefeld's Experimenter, hvor de indtørrede Celler udsættes for Luftens direkte Paavirkning i overordentlig tynde Lag.

Alle de i det Foregaaende omtalte Iagttagelser og Betragtninger findes ligeledes i en større Afhandling, som Brefeld samme Aar udgav i Landwirthschaftl. Jahrbücher[1]). Han havde særlig sin Opmærksomhed henvendt paa Exkrementerne; her fandt han Former, der af ham antages at staa de egentlige Alkoholgjærsvampe nær, men som navnlig skulle afvige fra disse i Henseende til Fruktifikationen. Han forudsætter, at Saccharomyces-Formerne kun kunne danne højst 4 Askosporer i hver Celle, og her fandt han Celler, der havde udviklet 10. Gives der ikke andre virkelig adskillende Karakterer, saa kunne Brefeld's nye Former dog godt høre til den nævnte Slægt. Jeg har nemlig paavist, at Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus ere tilbøjelige til at danne flere end 4 Askosporer i en Celle, og ved en bestemt Dyrkningsmaade har jeg kunnet fremskynde denne Tilbøjelighed, saa at flere af Cellerne hver udviklede endog 5—10 Askosporer.

I den næste Afhandling om Gjæringsorganismer, som han udgav 1876[2]), findes der ligeledes kun nogle faa Meddelelser, der vedrøre vort nuværende Spørgsmaal. Hertil hører f. Ex. den Oplysning,

---

[1]) Brefeld, Ueber Gährung. II. (Landwirthschaftl. Jahrb. IV B. 1875, p. 405—433.)

[2]) Brefeld, Ueber Gährung. III. (Landwirthschaftl. Jahrb. V B. 1876, p. 281—343.)



at Mycoderma vini Desm. ikke i Brefeld's Kulturforsøg udviklede Askosporer, uagtet han anvendte megen Umage paa at bringe den dertil. Dette Resultat gaar saaledes imod de tidligere Meddelelser fra J. de Seynes, Reess, Engel og Cienkowski. Her kan det være passende at minde om, at disse Forskere vel mene at have fundet Askosporer hos den nævnte Art, men at Ingen iagttog disses Spiring. Engels Figurer ere iøvrigt ikke skikkede til at bibringe den kritiske Læser den Overbevisning, at han virkelig har iagttaget Askosporedannelsen, thi de vise snarest hen til, at han har ladet sig skuffe af de fedtagtige Legemer, der saa hyppigt optræde hos denne Art og netop under de Dyrkningsforhold, der bleve anvendte for at fremkalde en Udvikling af Askosporerne. I min Doktordisputats »Organismer i Øl og Ølurt« har jeg p. 22 omtalt dem. Jeg haaber i et senere Arbejde at kunne give Bidrag til Løsningen af dette og andre Spørgsmaal vedrørende Mycoderma vini.

Ligesaa lidet som i de foregaaende Afhandlinger udtaler Brefeld sig her med Tydelighed, om hans Naturgjær, Vingjær eller vilde Gjær er en eller flere Arter. Efter nøje og gjentagne Gange at have studeret alle hans Arbejder, har jeg dog nærmest faaet det Indtryk, at han er tilbøjelig til at opfatte al Naturgjær som een Art og som Stamformen, hvoraf der ved Dyrkning er opstaaet forskjellige Varieteter af Kulturgjær. Paa Tavle II i hans sidst citerede Afhandling har han givet en Række Figurer af Vingjærcellernes Askosporer og af disses Spiring. I Beskrivelsen gjør han opmærksom paa, at Gjærcellernes Form og Størrelse er meget variabel, og at Sporernes Størrelseforhold ejheller have systematisk Værdi, og han betegner Reess's systematiske Bygning som et primitivt og forfejlet Forsøg. Saavel i denne som i den foregaaende Afhandling fremhæver han paa flere Steder stærkt, hvilken vigtig Opgave det er at studere Gjærformerne, men tillige hvor overordentligt vanskeligt det er paa dette Omraade at skaffe sig virkelige Renkulturer og dernæst at prøve Formernes fysiologiske og morfologiske Ejendommeligheder. Han bebuder i den Retning nye Undersøgelser; men de ere ikke udkomne.

Efter Tidsfølgen komme vi dernæst til Pasteur's berømte Bog om Øllet og dets Sygdomme. I de meget udførlige Meddelelser, som her ere givne om Saccharomyces-Arterne, finde vi mærkelig nok ikke en eneste Undersøgelse over Askosporedannelsen. Paa de Steder i Bogen, hvor Talen er herom, henvises nemlig kun til J. de Seynes, Reess og Engel[1]).

---

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148 og 170.

Det blev foran berørt, at der kunde være nogen Tvivl om, hvorvidt Saccharomyces Mycoderma udvikler Askosporer eller ej. I dette Spørgsmaal har Pathologen Grawitz[1]) sluttet sig til de Forskere, der paastaa, at de have iagttaget Askosporer hos den nævnte Art. Han kalder dem »Dauersporen« og beskriver, hvorledes de udvikle sig i Mycoderma vini-Koloniernes Sideknopper; ligeledes meddeler han at have iagttaget, at de spire med gjærsvampelignende Knopper. For Grawitz er den ovennævnte Art identisk med Oidium albicans eller Trøskesvampen.

Imod Rigtigheden af denne Opfattelse har Reess rejst begrundede Indvendinger, og han har tillige fremhævet, at den virkelige Trøskesvamp ikke danner Askosporer[2]). Vi staa altsaa her atter overfor det Usikre; Opfattelserne svinge frem og tilbage.

Medens de foregaaende Forfattere trods den Uoverensstemmelse, der paa flere Punkter findes i deres Meddelelser, dog alle ere enige i at opfatte Askosporerne hos Gjærcellerne som normale Formeringsorganer, traadte den franske Botaniker van Tieghem op med en hel anden og meget pikant Tydning[3]), der ved det pirrende Nye deri absolut maatte vække Opmærksomhed. Askosporedannelsen antages af ham at skyldes en Sygdomstilstand, hvori Protoplasmaet skulde indtræde derved, at vedkommende Celle udenfra bliver angreben af Bakterier. De Dele af Protoplasmaet, der ere nærmest Angrebspunkterne, antages at blive tilintetgjorte, medens derimod det Øvrige trækker sig tilbage, isolerer sig i Partier, som derpaa afrundes og endelig tilsidst omgive sig med en Væg, hvormed da Askosporerne ere færdige. **Jeg har underkastet Spørgsmaalet en experimental Prøve, som nærmere beskrives i det Følgende; den har vist, at van Tieghem's Opfattelse er aldeles greben ud af Luften.**

I 1880 indførte Wiesner Undersøgelserne over Askosporedannelsen hos Gjærceller som et nyt Led i den tekniske Varekundskab[4]);

---

1) Grawitz. Beiträge zur systemat. Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. (Virchow's-Archiv, 70 B. 1877, p. 546—598.)

2) Reess, Ueber den Soorpilz. (Sitzungsbericht der physikalisch-medicinischen Societät zu Erlangen. Sitzung vom 9 Juli 1877. Botan. Zeitung 1878, p. 201.)

3) Ph. van Tieghem, Troisième Mémoire sur Les Mucorinées. (Extrait des ann. des sc. nat. Botanique, 6 série, IV, 1878, p. 9.)

4) Bedeutung der technischen Rohstofflehre (techn. Waarenkunde) als selbständiger Disciplin und über deren Behandlung als Lehrgegen-

han mente, at han herved havde opdaget et Middel til at prøve, om Pressegjær var forfalsket med Ølgjær eller ej. »Jeg har overtydet mig om,« siger han, »at Pressegjæren, som den gaar i Handelen ogsaa undertiden er forfalsket med Ølgjær. En saadan Tilsætning betaler sig aabenbart kun, naar der benyttes større Mængder af Forfalskningsmidlet; men derved faar Pressegjæren en brunladen Farve, og denne maa atter skaffes bort ved Tilsætning af Stivelse. Kjøberne forurettes altsaa i høj Grad ved Forfalskningen. Man staar imidlertid temmelig magtesløs overfor dette Bedrageri. Den mikroskopiske Undersøgelse hjælper intet; thi Pressegjærens (Brændevinsgjærens) Celler kunne ikke direkte skjelnes fra Ølgjærens, og da der desuden til Forfalskningen kun anvendes meget ren Ølgjær, som er temmelig fri for Humlebestanddele, saa har man ejheller megen Udsigt til ved Hjælp af disse at komme paa Spor efter Sammenhængen. Jeg har nu udfundet en Methode, ved hvilken man kan paavise denne Forfalskning. Det er opdaget af Reess, at Gjærcellerne under Vegetationsbetingelser, der passe for Udviklingen af Skimmelsvampe, kunne i deres Indre danne flere, i Almindelighed fire Celler, de saakaldte Askosporer. Jeg har for første Gang gjort den Iagttagelse, at Pressegjærens Celler ikke formaa at udvikle disse, og senere blev der af E. Schumacher i mit Laboratorium og derpaa af den udmærkede Mykolog Brefeld leveret Beviser for, at Askosporedannelsen slet ikke forekommer hos Brændevinsgjæren, men at Formeringen af dennes Celler udelukkende foregaar ved Knopskydning. Herved adskiller den sig fra Ølgjæren, og man har saaledes et Middel til at paavise, om der i en forelagt Prøve Pressegjær findes Ølgjær eller ej. Man udbreder i et tyndt Lag den Gjær, der skal undersøges, paa Skiver af Rugbrød, kogte Kartofler eller Gulerødder og lader det Hele henstaa i et absolut fugtigt Rum ved en Middeltemperatur. Hvis der virkelig er Ølgjær tilstede, vil man da efter nogle Dages Forløb ved Hjælp af Mikroskopet finde Askosporer.«

Saadanne Meddelelser ere ikke skikkede til at forøge Praktikernes Agtelse for videnskabelige Forskningers Betydning. For det Første er, som vi allerede af mine foregaaende Bemærkninger kunne lære, Wiesner's Meddelelse om, at Pressegjær ikke skulde kunne danne Askosporer, aldeles urigtig. Alle de af mig undersøgte Prøver af Pressegjær have været ligesaa villige til at danne

stand an techn. Hochschulen, von Dr. Jul. Wiesner, Prof. an der Wiener Universität. (Dingler's Polytechnisches Journal, 237 B. Jahrg. 1880, p. 407 und folg.).

Askosporer som Olovergjær og endog meget villigere end Olundergjæren; jeg har jo endog gjentagne Gange gjort Forsøgene med Pressegjær fra selve Wien, nemlig fra Mautner's berømte Fabrik. Dernæst har Wiesner paa en mærkelig Maade rent misforstaaet, hvad Brefeld og hans egen Discipel Schumacher skrev. Den Første mener, som ovenfor anført, at al Kulturgjær, ogsaa Ølgjær, har tabt Evnen til at danne denne Fruktifikation, og sidstnævnte meddeler jo netop, at Pressegjæren formaar at udvikle den. Her kan der ligeledes passende erindres om, at der i Pressegjæren som Regel altid forekommer en større eller mindre Indblanding af vild Gjær, og om dennes Celler fremhæver jo netop Brefeld, at de med Lethed udvikle Askosporer. Der er altsaa ingen af de to Forfattere, der støtter Wiesner's Opfattelse.

Urigtige Methoder og vildledende Meddelelser kunne navnlig paa dette Omraade stifte megen Skade og dobbelt, naar de komme frem under en berømt Videnskabsmands Autoritet. De blive da i Almindelighed tagne som Trossætninger og sætte sig ofte i længere Tid fast i de tekniske Laboratorier. Disse kunne jo ogsaa umuligt ved selvstændige Undersøgelser prøve Alt, hvad der kommer frem, dertil bevæge deres Arbejder sig paa et altfor stort og forskjelligartet Omraade. Det kan næppe undgaas, at der i Stridsspørgsmaal, om en Forfalskning har fundet Sted eller ej, gives Erklæringer, som i god Tro ene støtte sig til saadanne Analyser som de foran berørte. Hvilken Uret og Forvirring, der under saadanne Forhold kan opstaa, er af sig selv indlysende. Med disse Betragtninger skrinlægges saa Wiesner's nye tekniske Methode.

Der er endnu et Arbejde at undersøge i denne kuriøse Kjæde af Modsigelser og ofte løse Angivelser, som jeg fra de sidst forløbne femten Aars Historie har draget frem til kritisk Belysning. Dette Arbejde skyldes Kern[1]) og handler om den i Kaukasus ved Gjæring af Komælk tilberedte Drik Kephir[1]). Gjærcellerne, som ere virksomme herved, henfører han til Sacch. cerevisiæ, og da det er en Kulturform, finder han det i sin Orden, at det ikke lykkedes for ham at faa den til at udvikle Askosporer.

Spørge vi til Slutningen om, hvilke sikre Resultater de undersøgte Arbejder have bragt, saa se vi, at de egentlig

---

[1]) Kern, Ueber ein Milchferment des Kaukasus. (Botan. Zeit. XL. 1882, p. 264 og Biolog. Centralblatt 1882. 1 Maj.)

indskrænke sig til de Oplysninger, som navnlig skyldes Reess, nemlig at Arter af Slægten Saccharomyces under visse, endnu overfladisk kjendte Vilkaar, kunne danne endogene Celler, og at disse i passende Næringsvædsker udvikle sig til vegetative Celler med Knopskydning. Forøvrigt strides der frem og tilbage, uden at en bestemt Afgjørelse til den ene eller anden Side opnaas, thi de exakte Methoder, som ene kunde have ført hertil, manglede.

Undersøgelserne over Askosporerne staa i nøje Forbindelse med det fundamentale Spørgsmaal om Begrændsningen af Saccharomyces-Arterne, et Spørgsmaal, der er af den største Betydning saavel for Gjæringsstekniken som for Fysiologien. For Praktikerne har Sagen to Sider: Kunne disse forskjellige Arter, som siges at være tilstede, tages i planmæssig Kultur og tvinges til at give os Produkter med andre og bedre Egenskaber end de, vore nuværende have? Eller: Gribe de vilde Gjærarter forstyrrende ind i den Drift, vi nu føre? Og hvorledes skulle vi da værge os imod dem? Men i alle Tilfælde er der det samme vigtige Spørgsmaal: Hvorledes skulle vi faa fat paa dem for at underkaste dem en Prøve, og hvorpaa kunne vi kjende dem?

De Forskere, der siden Udgivelsen af Reess's systematiske Arbejde have anstillet experimentelle fysiologiske Undersøgelser med Alkoholgjærsvampene, have vel i Regelen set, at der ogsaa til dem forelaa saadanne ubehagelige Spørgsmaal, men de have da skudt dem tilside, stolende paa, at man vel kunde komme igjennem uden at tage Hensyn dertil. Al Kulturgjær blev raskvæk taget under Et som Sacch. cerevisiæ. I Experimenterne blev der i det Højeste kun skjelnet mellem Over- og Undergjær. Men om den ene var lidt forurenet af den anden, eller om der i Kulturgjæren fandtes vild Gjær, dertil tog man intet Hensyn, man stod jo ogsaa i Virkeligheden værgeløs overfor Tilfældet og formaaede slet ikke at anstille nogen Prøve. Forskningen skred saaledes frem ad denne ikke meget videnskabelige Bane, hvor der bestandig blev experimenteret med ubekjendte Størrelser, som dog ved Regnestykkets Opgjørelse bleve indførte som værende bekjendte. Man trøstede sig med, at i fysiologisk Henseende maatte forhaabentlig disse kjedelige Arter, som muligvis dog vare tilstede, forholde sig ens, men gjorde heri Regning uden Vært. I mine sidste Arbejder paaviste jeg f. Ex., at der er nogle Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler, som i Modsætning til den øvrige større Rest kun have Alkoholgjærvirksomheden uden at være i Besiddelse af Evne til at udsondre In-

vertin[1]). Og i mine følgende Afhandlinger vil der blive givet Exempler paa, at der ogsaa indenfor den Gruppe Saccharomyces-Arter, som have begge Fermentvirksomhederne, findes fremtrædende fysiologiske Differenser.

Anbringes der i samme Næringsvædske to Gjærsvampe, en med svag og en anden med kraftig Alkoholgjæringsevne, saa vil den svage vel som Regel bukke under i den stedfindende Konkurrence, men dog paa sin Side hæmme den stærkere Rival noget[2]). Have nu de to kæmpende Gjærarter samme Udseende, hvilket almindelig finder Sted, bliver Følgen, som Sagerne staa i Øjeblikket, at den experimenterende Fysiolog bliver skuffet, idet han tilskriver en af Arterne de Resultater, som kun komme frem derved, at to indbyrdes forskjellige konkurrerede om samme Næringsbund. Saadanne Vildfarelser have hyppig fundet Sted, og hvis de begaaede Fejl ikke, naar Eftersynet en Gang foretages, vise sig at være meget store, da skyldes dette et Held og ikke den anvendte Methode.

Der er skrevet og talt meget om Bryggerigjærens Udarten; de udenlandske Tidsskrifter indeholde jævnlig Afhandlinger derom, skrevne af de mest ansete Gjæringsteknikere. Denne Udarten tilskrives Maltets, Vandets og andre Faktorers Indflydelse. Men se vi nøjere paa disse Betragtninger, saa finde vi, at det Hele er en dunkel, svævende Tale uden sikker Begrundelse og aldeles blottet for paalidelige experimentelle Undersøgelser. Hvori bestaar da denne Udarten? Hvoraf vide vi, at Sacch. cerevisiæ overhovedet kan udarte? Svaret er i Virkeligheden hurtig givet: Vi vide i Øjeblikket endnu ikke, hvad Sacch. cerevisiæ er!

Først naar det er afgjort, om der findes forskjellige Arter og Racer eller ej, og Karaktererne for disse ere udfundne, erholde de for Theori og Praxis lige vigtige fysiologiske Undersøgelser sikre Udgangspunkter. Først da kan der med Udsigt til at naa en tilfredsstillende Løsning af Spørgsmaalene, der idelig trænge sig frem for os, tages fat paa Studiet af de enkelte Arters Virksomheder, af Lovene for de meget komplicerede Forhold, der op-

---

1) Emil Chr. Hansen, Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 1881, p. 315) og: Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Samme Tidsskrift I B. 1882, p. 412.)

2) Se min citerede Afhandling Om Sacch. apiculatus p. 323.

dermed. De Seynes fremhæver, at Cellerne af Mycoderma vini kun danne de omtalte Formeringsorganer, naar de dyrkes under mangelfulde Ernæringsvilkaar, hvorved deres rent vegetative Formering, Knopskydningen, hæmmes, f. Ex. i Vand eller i stærkt fortyndet Afkog af Sukker, Gummi o. s. v., og han udtaler, at hans Forsøg saaledes ogsaa staa i Overensstemmelse med, hvad der er Lov for de højere Planter.

Dette er den første Meddelelse, der i Literaturen foreligger om Sporer hos Gjærsvampe.

Omtrent samtidig hermed havde Reess i De Bary's Laboratorium og med denne berømte Botanikers Bistand begyndt at studere Saccharomyces-Arterne[1]). Ogsaa han opdagede de omtalte Sporer ved et rent Tilfælde uden egentlig at søge dem. For at erfare, om Celler af Øl-Undergjær skulde kunne udvikle en Skimmelform, bleve de udsaaede dels paa raa og dels paa kogte Skiver af Kartofler, Kaalrabi, Gulerødder o. s. v., ligeledes paa Klister, Gummiopløsning og Kjød og overhovedet paa forskjellige Næringssubstrater og derpaa dyrkede i et fugtigt Rum. I Stedet for Mycelium udviklede nogle af Cellerne imod Forventning Sporer i deres Indre. Udviklingsgangen heraf beskriver han paa følgende Maade: »Paa 5te Dagen efter Udsæden forsvinde Vakuolerne, og tæt, finkornet Protoplasma udfylder nu hele Rummet indenfor Cellevæggen. Snart optræde 2—4 rundladne Øer, som i Løbet af kort Tid omgives med en tynd Væg; denne tager til i Tykkelse, hvorimod Modercellens samtidig hermed svinder. En Modercelle med kun 1 Dattercelle hører til de sjældne Tilfælde.« Sporernes Udvikling opfatter han som fri Celledannelse, og i Følge hans Anskuelse stemmer den overens med, hvad der finder Sted hos lavtstaaende Askomyceter og da navnlig hos saadanne som Exoascus Pruni Fckl. Gjærcellens Endosporer blive derfor af ham kaldte Askosporer og Modercellen Askus. Efter at han saaledes, som han selv siger, paa en højst overraskende Maade havde fundet denne Fruktifikationsform, søgte han nu ogsaa i selve Ølbryggerierne og Gjærfabrikkerne at opdage den og komme paa Spor efter, under hvilke Betingelser den her kunde træde frem. Hans Bestræbelser i den Retning vare dog alle frugtesløse. Ved gjentagne Gange at udvaske Undergjær i et Bægerglas med saadan Forsigtighed, at han undgik en Skimmelvegetation, erholdt han derimod efter 3 Ugers Forløb en smuk Udvikling af Askosporer. Deraf slutter han,

[1]) Reess, Zur Naturgeschichte der Bierhefe, Sacch. cerevisiæ Meyen. (Botan. Zeitung, XXVII Jahrg., 1869, p. 105—118.)

at denne Dannelse vil indtræde paa de Steder, hvor Gjær af en eller anden Grund er kastet hen og en Tidlang holder sig fri for Skimmel. At Sagen ikke er saa simpel, som Reess her tager den, ved Enhver, der har studeret Spørgsmaalet nøjere. Han beskriver derpaa Sporernes Spiring. Under denne udvikles der sædvanlige, knopskydende Gjærceller, men hverken Mycelium eller nogen Skimmelform.

Om Maaden, hvorpaa Forsøgene bleve udførte, fremhæves p. 113, at der ikke blev taget nogensomhelst Forsigtighedsregel for at opnaa en Renkultur. Som Standpunktet i Mykologien og Gjæringsfysiologien for Øjeblikket er, lyder denne Tilstaaelse underlig, og se vi rigtig efter Sammenhængen, hvori den staar, erfare vi endog, at der ligger en Udfordring deri. Da Reess for 14 Aar siden skrev dette, vare Forholdene imidlertid ganske anderledes end nu. Der blev da, navnlig gjennem Hallier og hans Kreds, drevet meget Uvæsen med saakaldte Renkulturer og dertil hørende Apparater, og der arbejdedes paa en aldeles kritikløs Maade. Gjærsvampe, Skimmelsvampe og Bakterier udviklede sig i vedkommende Apparat, den ene Form af den anden, man bildte sig ind at se det, og Apparatet antoges at skjærme for Vildfarelser. Saa kom den Reaktion, hvortil Reess hører; den vil i sin Iver ikke have noget med Renkulturer at bestille og begaar saa selv netop derved grove Fejl. Ville vi nemlig i vore Undersøgelser over Mikroorganismer sikre os Udgangspunkterne, saa maa vi fremfor Alt kunne adskille Formerne fra hverandre og under vort Arbejde med dem holde hver for sig i fuldstændig rene Kulturer; uden dette er ingen exakt Forskning mulig paa dette Omraade.

Da Reess bestandig arbejdede med urent Materiale, kunne vi i det Højeste kun vente, at visse Hovedtræk i hans Undersøgelser ere rigtige. Hertil hører navnlig, at han har iagttaget Askosporer hos Gjærceller og meddelt Dyrkningsmaader, ved hvilke de kunne udvikles. Men hans Iagttagelser knytte sig derimod næppe, som han selv mener, til Øl-Undergjæren; Alt viser tvertimod hen til, at han slet ikke har iagttaget Askosporer hos denne, men derimod hos en eller rimeligvis flere vilde Gjærarter.

Aaret efter udgav Reess sine samlede Studier over Alkoholgjærsvampene i en selvstændig Bog[1]). Om selve Askosporedannelsen meddeles intet Nyt af nogen Betydning. Der udtales, at den vistnok begunstiges af lave Temperaturer. Mine Under-

---

[1]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870.

søgelser have senere vist, at det Modsatte netop er Tilfældet. Om Øl-Overgjær giver han den løjerlige Meddelelse, at han kun igjennem en særegen Dyrkningsmaade opnaaede at faa dens Celler til at danne Askosporer og da endog kun meget sparsomt. I 8 Dage maatte nemlig den omtalte Overgjær dyrkes i Ølurt ved den laveste Undergjæringstemperatur, og efterat Cellerne paa denne Maade vare komne til aldeles at ligne Undergjærens, bleve de som sædvanlig udsaaede paa Gulerodsskiver, hvor meget faa af dem udviklede Askosporer aldeles af samme Art som dem, han mener at have iagttaget hos Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ.

Ligesom i de fleste Undersøgelser, der foreligge om Saccharomyces-Arterne, mangler der ogsaa i denne fast Bund. Den typiske Overgjærs Celler ere netop i Almindelighed villige til at danne Askosporer, og hans Forsøg paa først at omdanne Overgjæren til Undergjær vare overflødige, ja kunde slet ikke føre til nogetsomhelst Resultat. Hos alle de af ham opstillede Arter med Undtagelse af Sacch. apiculatus beskriver han Askosporer og opfører i nogle Tilfælde disses Maal som Karakterer; et nøjere Studium viser imidlertid, at der slet ikke i Naturen findes saadanne Grændser, som dem Reess angiver. Dette gjælder overhovedet om de systematiske Karakterer, hvorved han mener at kunne skjelne mellem Arterne. Ogsaa hos Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini Desm.) meddeler han ligesom J. de Seynes at have iagttaget Sporer.

Eidam var den Første, som drog Rigtigheden af de foregaaende Meddelelser i Tvivl[1]). Han siger herom, at saavel han selv som Andre bestandig med negativt Resultat have forsøgt efter Reess's Methode at fremstille disse Dannelser, og han antager, at Aarsagen hertil muligvis kunde søges deri, at Sporerne kun udvikle sig paa en bestemt Aarstid.

J. de Seynes's og Reess's Opdagelse havde, som rimeligt var, vakt megen Opmærksomhed, og allerede i 1872 udkom der fra fransk Side et større Arbejde over det samme Emne, nemlig af Engel[2]). Heri meddeles en forbedret Methode til Udviklingen af de ofte omtalte Sporer. Gjærcellerne udsaas paa den glatte Overflade af en Gibsblok, der derpaa anbringes i et Glas med Vand saaledes, at Overfladen med vedkommende Gjær holdes jævnt fugtig, og Glasset dækkes derefter med en Glasplade eller paa anden Maade. Forøvrigt giver dette Skrift ingen Oplysning af

[1]) Eidam, Der gegenwärtige Standpunkt der Mycologie, 1871, p. 30, zweite Auflage, 1872, p. 59—60.
[2]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

Betydning. Paa flere Steder indeholder det kun en tankeløs Gjentagelse af Reess's Resultater, og hvor Engel kritiserer denne, er han i Regelen uheldig. Om Sacch. apiculatus meddeler han, at han hos denne har opdaget en ny Fruktifikationsform, hvorved den skulde faa en vis Lighed med Protomyces macrosporus. Skjøndt han selv erkjender, at han ikke fik sine Forsøg i den nævnte Retning gjennemførte, er han dog saa dristig paa Grund af den nye Fruktifikationsform, som han mener maa være tilstede hos denne Art, at opføre den som Repræsentant for en ny Slægt, Carpozyma.

I en tidligere Afhandling[1]) har jeg allerede udtalt, at Engel's Meddelelse beror paa en Vildfarelse, og kan nu endvidere tilføje, at jeg ved senere atter og atter at gjentage og variere hans Forsøg er kommen til det bestemte Resultat, at Sacch. apiculatus ikke danner de af Engel beskrevne Fruktifikationsorganer. Arbejder man paa en unøjagtig Maade, som Engel har gjort, saa kan man vel i sine Gibsblok-Kulturer af og til finde Legemer, der ligne den af ham afbildede Protomyces-Fruktifikation, og disse optræde ikke blot i Dyrkningsforsøgene med den nævnte Saccharomyces-Art, men ere en ligesaa hyppig, udenfra kommende Indblanding ved Forsøgene med de andre Arter. Holdes Kulturerne derimod fuldstændig rene, saa optræde de ikke. Jeg har hidtil forgjæves forsøgt at bestemme, hvortil de høre, men at de ikke ere Udviklingstrin af Sacch. apiculatus er i Følge Ovenstaaende bevist. Engel's ny opstillede Slægt kan derfor ikke godkjendes. Et andet Spørgsmaal er det, om den lille citronformede Gjærsvamp, der ikke som de andre, til Slægten Saccharomyces hørende Arter danner Askosporer, med Rette kan stilles sammen med disse under en og samme Slægt. Det er imidlertid urigtigt at forøge Systematikens allerede overordentlig store Registre med nye Navne uden tvingende Nødvendighed, og en saadan er ikke endnu tilstede. Vor Viden om Saccharomyces-Arterne er i Øjeblikket alt for ringe til, at vi formaa at drage Grændserne. Den citronformede Gjærsvamp skal derfor indtil videre beholde sit gamle Navn, Sacch. apiculatus.

Af det Foregaaende erindres det, at J. de Seynes betegner Sporerne efter deres Dannelsesmaade som Endosporer og ikke som

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Ueber Saccharomyces apiculatus. (Hedwigia, 1880, p. 75) og navnlig: Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I. B. 1881, p. 313.)



Reess indlod sig i nogen Drøftelse af, hvilken systematisk Plads, Slægten Saccharomyces i Følge den ny opdagede Fruktifikationsform maatte indtage. Paa samme Maade har Cienkowski i sine Studier over Mycoderma vini[1]) forholdt sig, ogsaa han kalder Sporerne, som han troer at have iagttaget hos denne Art, for Endosporer, men i Modsætning til de foregaaende Forskere mener han, at de ikke opstaa ved fri Celledannelse, men ved en Deling af hele Cellens Indhold. »Naar Cellerne forberede sig til Udvikling af Endosporer,« siger han, »bliver Indholdet tættere, og derpaa deler det sig i fire, i en Række liggende Skiver eller i ligesaa mange kileformede Partier.« (Hans Tab. II, Fig. 36. c. d. e.). I hans citerede Figurer ses der Antydning af Vægge, der ere i Færd med at udvikle sig, og der er næppe nogen Tvivl om, at han her har havt de Dannelser for sig, som jeg i mine efterfølgende Undersøgelser kalder Skillevægdannelser. (Se mine Fig. 1—5a). Disse ere imidlertid forskjellige fra den egentlige Askosporedannelse; denne foregaar hovedsagelig saaledes, som Reess har beskrevet den.

Imod den af Reess givne Tydning af Saccharomyces Sporernes morfologiske Betydning rejste Brefeld et Angreb[2]). Han opfatter Saccharomyces-Arterne som nær beslægtede med Mucor racemosus. »Naar Gjærcellen,« siger han, »befinder sig udenfor sin Næringsvædske og er udsat for Luftens direkte Paavirkning, udvikler den sig til et lille Sporangium med nogle faa Sporer, paa samme Maade som det sker med »Gemmedannelsen« hos den nævnte Mucor, naar den kommer i Berøring med Luften. Sporangiet hos denne er mere kompliceret bygget, og denne større Komplikation i Bygningen svarer til den højere Udvikling, som Mucor har opnaaet i Sammenligning med Saccharomyces.« Som Asci, mener han, kunne kun saadanne Celler opfattes, der ikke blot i deres Indre danne Sporer, men som tillige have udviklet sig af den kjønsløse anden Generation, der er fremgaaet af et befrugtet Askogon. Da der imidlertid hos Gjærceller hverken findes Askogon eller Kjønsakt overhovedet, slutter Brefeld ydermere heraf, at Saccharomyces-Arterne ikke kunne henregnes til Askomyceterne. Paa den Tid, han skrev dette, var der noget Berettiget i denne Betragtningsmaade; thi man antog den Gang, at der hos Askomyceterne overhovedet maatte findes de hos nogle faa Arter fornylig opdagede Kjøns-

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Petersborg Akademiets Bulletins, T. XVII, 1873.)

[2]) Brefeld, Mucor racemosus und Hefe. (Flora, 56. Jahrg. 1873, p. 385—399.)

organer. I Øjeblikket synes Forskningen derimod at have bevist, at der ogsaa iblandt fuldstændig typiske, højt udviklede Askomyceter findes et større Antal, hos hvilke Kjønsorganer aldeles mangle. Brefeld's Indvendinger have altsaa mistet den Gyldighed, som de tidligere tildels havde, og hvad den af ham fremførte nye Tydning angaar, ja, saa kan det Samme siges om den som om mange af de Systemer, hvorpaa Morfologien er saa overvættes rig: den er egentlig hverken bedre eller daarligere end den gamle. Der er Grunde, som tale for begge, men ikke saadanne, som give en sikker Afgjørelse til den ene eller anden Side, Spørgsmaalet er endnu bestandig flydende, og det vil ikke være vanskeligt ved Siden af Reess og Brefeld at opstille en tredie, ligesaa rimelig Tydning som disses. Foreløbig holde vi altsaa fast ved Reess's morfologiske Betragtningsmaade, da den har Aldersprioriteten, og opfatte Saccharomyces-Arterne som lavtstaaende Ascomyceter.

Reess anmeldte ovenstaaende Afhandling i Botan. Zeitung 1873, p. 777, og knyttede som Forsvar mod Angrebene nogle Bemærkninger hertil. Disse bragte imidlertid ingen virkelig Oplysning og viste kun, at han følte sig usikker.

Det var ikke blot i den botaniske Verden, at Reess's Bog med Iver blev studeret, men en ikke ringere Opmærksomhed blev ogsaa skjænket den af Gjæringsteknikerne. Tidsskrifterne for Gjæringsindustriens forskjellige Grene bære paa den Tid talrige Vidnesbyrd derom. Som oftest vare imidlertid de her offentliggjorte nye Bidrag, som Reess's Undersøgelser havde fremkaldt, ubetydelige og ikke sjælden aldeles værdiløse. I Blankenhorn's og Morits's Afhandling[1]) findes dog for første Gang den Oplysning, at en Gjærcelle ogsaa kan danne et større Antal Askosporer end 4; der beskrives og afbildes nemlig Celler hver med 5. Rigtigheden af denne Iagttagelse bekræftede David[2]), og han meddelte tillige, at man paa selve Objektglasset kan dyrke Gjærceller saaledes, at de udvikle Askosporer. Han anbragde vedkommende Gjærcelle paa dette i en Draabe Vand, som han derpaa dækkede med et Dækglas, og satte det Hele ind i et fugtigt Rum. Efter tre Døgns Forløb var der dannet Askosporer.

Reess havde ikke havt Lejlighed til nærmere at studere Brændevinsgjæren (Pressegjær), og en af Wiesner's Elever, Schu-

---

[1]) Blankenhorn und Moritz, Unters. über den Einfluss der Temperatur auf die Gährung. (Annalen der Oenologie, 3 B. 1873, p. 11.)

[2]) David, Ueber Rothweingährungspilze. (Annalen der Oenologie, 4 B. 1874, p. 223.)



macher, foretog derfor Undersøgelser i den Retning[1]). Det viste sig, at Pressegjærcellerne ogsaa formaa at udvikle Askosporer, og ene paa Grund heraf drager han nu uden videre den Slutning, at denne Gjærform maa være en Kulturform af Sacch. cerevisiæ. Af hans Maade at slutte paa vilde følge, at alle de andre af Reess opstillede askosporedannende Arter ligeledes maate henføres til denne ene Art. Ligesom de Foregaaende arbejdede ogsaa Schumacher med urent Materiale; flere af de forunderlige Angivelser i hans Afhandling finde heri deres naturlige Forklaring.

En ny Fremgangsmaade, ved hvilken Askosporerne ligeledes skulle kunne dannes, angives af Müntz[2]). Ved nogle kemiske fysiologiske Experimenter, som han i andet Øjemed anstillede med forskjellige Svampe, ledede han en Iltstrøm gjennem en Glykoseopløsning, hvori han dyrkede Ølgjær; de fleste af dennes Celler dannede herved Sporer. Jeg har en Gang foretaget nogle lignende Forsøg, men disse viste alle hen til, at Behandlingen med Ilt ingen Indflydelse havde. Undergjær af Sacch. cerevisiæ og en af de vilde Gjærarter, som høre til Gruppen Sacch. Pastorianus, bleve hver for sig anbragte dels i steriliseret Urt og dels i steriliseret Vand, og igjennem disse Vædsker blev der ledet en langsomt boblende Iltstrøm, i en Forsøgsrække i Løbet af 5 Timer, og i en anden i $1^1/_2$ Time. Askosporer optraadte imidlertid ikke, ejheller efterat Vandkulturerne havde staaet 15 Døgn, og Gjæren i den Tid var bleven udvasket, som Reess angiver det, dog var den sidstnævnte Gjærart ellers meget villig til at danne disse Formeringsorganer. Samme to Gjærarter bleve ogsaa efter Engel's Methode udsaaede paa Gibsblokke og her samtidig med Forsøgene i Vædskerne udsatte for Iltens Paavirkning, men ligeledes uden kjendelig Indvirkning. Askosporerne optraadte som de plejede, hverken før eller senere, sparsomt og langsomt paa Blokkene med Undergjærformen af Sacch. cerevisiæ, rigeligt og forholdsvis hurtigt paa Blokkene med den vilde Gjærart.

I 1875 offentliggjorde Brefeld en Række biologiske Iagttagelser[3]), som paa Grund af den livlige, opsigtvækkende Form, hvori

---

[1]) Schumacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (Aus dem LXX. Bande der Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. in Wien. I. Abth. Juni-Heft. Jahrg. 1874.)

[2]) Müntz, Recherches sur les fonctions des champignons. (Comptes rendus hebd. des séances de l'Acad. des Sciences 1875, T. 80, p. 178—181. Citeret efter Botan. Jahresbericht. 3 Jahrg p. 171.)

[3]) Brefeld, Beobachtungen über die Biologie der Hefe. (Sitzungsber.

de bleve meddelte, og paa Grund af de overraskende Nyheder, som de bragde, bleve grebne med stor Interesse og hurtig overførte i Lærebøger og populære Skrifter. Brefeld meddeler, at de ere Frugten af flere Aars fortsatte Studier. Hans Hypothese om Gjærsvampenes Kredsløb i Naturen har jeg imødegaaet i min foran omtalte Afhandling om Sacch. apiculatus, og af mine efterfølgende Undersøgelser ville Læserne efterhaanden kunne erfare, at hans Arbejde overhovedet ikke kan taale en kritisk Prøve. I nærværende Afhandling skal kun tales om, hvad der angaar Askosporerne hos Saccharomyces-Arterne. I Løbet af 2 Aar forsøgte Brefeld forgjæves efter Reess's Methode at bringe Celler af Kulturgjær (Øl-Over- og Undergjær samt Pressegjær) til at udvikle disse Fruktifikationsorganer.

»Det gjaldt nu,« siger han, »om at finde en naturlig Forklaring, og en Ledetraad blev da den Tanke, at den mangeaarige Kultur kunde have udøvet en skadelig Indflydelse paa denne Udvikling. Den dyrkede Gjær har nemlig under de i Industrien herskende Forhold ikke Lejlighed til at fruktificere, men forplanter sig udelukkende ved vegetativ Formering.« Ved at anbringe Celler af vild Gjær fra Vindruer paa Objektglas, som han derpaa hensatte i et fugtigt Rum, opnaaede han imidlertid bestandig allerede efter 24 Timers Forløb en rig Udvikling af Askosporer. De paa samme Tid anstillede Prøver med Kulturgjær bleve imidlertid ogsaa efter denne Fremgangsmaade frugtesløse. »Disse Forsøg,« mener han, »vise paa den skjønneste Maade, hvilken Forskjel der i Henseende til Fruktifikationen findes imellem den vilde, naturlige Gjær og Kulturgjæren, og da Aarsagen til denne Forskjel udelukkende maa søges i den Indflydelse, som Kulturen paa den ene Side har udøvet, saa følger heraf, at Naturracerne under Dyrkningen efterhaanden have mistet den Evne til at danne Fruktifikationsredskaber, som er ejendommelig for Stamformen. Aarsagen til, at de have tabt denne Evne, som de en Gang besade, kan næppe være nogen anden end den, at de i Industriens Tjeneste ere tvungne til kun at formere sig ad vegetativ Vej ved Knopskydning.«

Han angriber Reess's Methoder og fremhæver Dyrkningen paa Objektglasset som meget bedre. At David allerede tidligere har givet Oplysning herom, omtaler han ikke. Engels Arbejde synes ogsaa at være ham aldeles ubekjendt; han tager i hvert Fald ikke Hensyn dertil. Den morfologiske Tydning af Gjærcellens Frukti-

---

der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin. 16 März 1875. Botan. Zeitung 1875 p. 401).

fikation, som han for et Aar siden havde publiceret i Tidsskriftet Flora, gjentager han ogsaa her tilligemed de i den Anledning rettede Angreb paa Reess.

Brefeld's i det Foregaaende omtalte Theori er aldeles uholdbar. Jeg har nemlig med Sikkerhed paavist, at ikke blot vild Gjær men ogsaa Kulturgjær udvikler Askosporer. En rigelig og kraftig Formering i den nævnte Retning erholdt jeg endog med Lethed ikke blot af Overgjær (Sacch. cerevisiæ) fra kjøbenhavnske Brænderier og Pressegjærfabrikker, fra Forsøgsstationens Brænderi i Biesdorf, fra Helbing's Brænderi i Wandsbek og fra Mautner's Gjærfabrik i Wien, men tillige af den kraftige og typiske Overgjær, som i umindelige Tider har været dyrket i Edinburgh's Bryggerier. Sidstnævnte Gjær maa tilmed netop anses som et udmærket Exempel paa en rigtig gammel Kulturgjær. Overgjæringen paa de britiske Øer hører nemlig i Følge alle Efterretninger til den ældste Gjæringsindustri, vi kjende. Medens paa Fastlandet Undergjæringen efterhaanden har fortrængt den gamle Overgjæring i Bryggerierne, har den nemlig der indtil den nyeste Tid endog holdt sig som eneraadende. Ogsaa Øl-Undergjær, fandt jeg, formaar at udvikle Askosporer omend mindre villig end de foran omtalte Gjærformer. Det er følgelig slaaet fast, at Kulturgjær ligesaa godt som vild Gjær kan danne Askosporer. Paa den anden Side kan det ogsaa fremhæves, at jeg nu i henved tre Aar har dyrket Gjærsvampe af Gruppen Pastorianus i Urt i Carlsberg Laboratorium og i den Tid ved Knopskydning avlet endeløse Generationer, uden at det har været mig muligt at opdage Spor af Svækkelse i deres Evne til at danne disse Formeringsorganer, og jeg havde dog min Opmærksomhed særlig henvendt derpaa.

Brefeld foretog en længere Række Forsøg saavel med sædvanlige vegetative Gjærceller som med Sporerne for at erfare i hvilken Grad, de kunne taale Udtørring. Med en Vanddraabe bleve de anbragte paa Objektglasset og her overladte til Indtørringen. De vegetative Celler af Kulturgjæren havde allerede mistet deres Spireevne efter 14 Dages, den vilde Gjærs Celler derimod først efter 4 Ugers Forløb, og sidstnævntes Askosporer bevarede endog deres Livskraft i flere Maaneder. I disse Forsøg savne vi Oplysninger om den Tilstand, i hvilken Cellerne vare, da de bleve anbragte paa Objektglasset, om Forsøgene f. Ex. bleve gjorte med unge, kraftige Celler eller med gamle, med Celler avlede under samme eller under forskjellige Vilkaar. Vi savne endvidere navnlig Oplysninger om Temperaturforholdene, og disse spille her en meget stor Rolle, større end Brefeld vistnok har

tænkt sig. Medtagne Gjærceller, som ikke ved Værelsets vexlende Temperatur kunne komme til Live endog i den gunstigste Næringsvædske, formaa det, naar de under lignende Forhold udsættes for en nogenlunde konstant Temperatur af c. 27° C. Antage vi, at Brefeld i hvert Fald har anstillet sine Forsøg saaledes, at de kunne sammenlignes indbyrdes, saa have vi, omend ikke absolute dog relative Størrelser, som have deres Interesse. Betænkelighederne og Spørgsmaalene komme imidlertid dog atter frem overfor de to Rubriker, hvormed han opererer: Er al Kulturgjær virkelig det Samme? Er der ingen Forskjel paa vild Gjær? Skjules der ikke under disse Navne hver for sig forskjelligartede Racer eller Arter med forskjellige fysiologiske Ejendommeligheder?

Om Gjær, som i nogenlunde tykke Lag er lufttørret, vide vi gjennem flere Forskeres overensstemmende Forsøg, at de vegetative Celler deri i flere Maaneder kunne bevare deres Livskraft. Forholdene ere imidlertid her, maa vi erindre, anderledes end i Brefeld's Experimenter, hvor de indtørrede Celler udsættes for Luftens direkte Paavirkning i overordentlig tynde Lag.

Alle de i det Foregaaende omtalte Iagttagelser og Betragtninger findes ligeledes i en større Afhandling, som Brefeld samme Aar udgav i Landwirthschaftl. Jahrbücher[1]). Han havde særlig sin Opmærksomhed henvendt paa Exkrementerne; her fandt han Former, der af ham antages at staa de egentlige Alkoholgjærsvampe nær, men som navnlig skulle afvige fra disse i Henseende til Fruktifikationen. Han forudsætter, at Saccharomyces-Formerne kun kunne danne højst 4 Askosporer i hver Celle, og her fandt han Celler, der havde udviklet 10. Gives der ikke andre virkelig adskillende Karakterer, saa kunne Brefeld's nye Former dog godt høre til den nævnte Slægt. Jeg har nemlig paavist, at Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus ere tilbøjelige til at danne flere end 4 Askosporer i en Celle, og ved en bestemt Dyrkningsmaade har jeg kunnet fremskynde denne Tilbøjelighed, saa at flere af Cellerne hver udviklede endog 5—10 Askosporer.

I den næste Afhandling om Gjæringsorganismer, som han udgav 1876[2]), findes der ligeledes kun nogle faa Meddelelser, der vedrøre vort nuværende Spørgsmaal. Hertil hører f. Ex. den Oplysning,

---

[1]) Brefeld, Ueber Gährung. II. (Landwirthschaftl. Jahrb. IV B. 1875, p. 405—433.)

[2]) Brefeld, Ueber Gährung. III. (Landwirthschaftl. Jahrb. V B. 1876, p. 281—343.)

at Mycoderma vini Desm. ikke i Brefeld's Kulturforsøg udviklede Askosporer, uagtet han anvendte megen Umage paa at bringe den dertil. Dette Resultat gaar saaledes imod de tidligere Meddelelser fra J. de Seynes, Reess, Engel og Cienkowski. Her kan det være passende at minde om, at disse Forskere vel mene at have fundet Askosporer hos den nævnte Art, men at Ingen iagttog disses Spiring. Engels Figurer ere iøvrigt ikke skikkede til at bibringe den kritiske Læser den Overbevisning, at han virkelig har iagttaget Askosporedannelsen, thi de vise snarest hen til, at han har ladet sig skuffe af de fedtagtige Legemer, der saa hyppigt optræde hos denne Art og netop under de Dyrkningsforhold, der bleve anvendte for at fremkalde en Udvikling af Askosporerne. I min Doktordisputats »Organismer i Øl og Ølurt« har jeg p. 22 omtalt dem. Jeg haaber i et senere Arbejde at kunne give Bidrag til Løsningen af dette og andre Spørgsmaal vedrørende Mycoderma vini.

Ligesaa lidet som i de foregaaende Afhandlinger udtaler Brefeld sig her med Tydelighed, om hans Naturgjær, Vingjær eller vilde Gjær er en eller flere Arter. Efter nøje og gjentagne Gange at have studeret alle hans Arbejder, har jeg dog nærmest faaet det Indtryk, at han er tilbøjelig til at opfatte al Naturgjær som een Art og som Stamformen, hvoraf der ved Dyrkning er opstaaet forskjellige Varieteter af Kulturgjær. Paa Tavle II i hans sidst citerede Afhandling har han givet en Række Figurer af Vingjærcellernes Askosporer og af disses Spiring. I Beskrivelsen gjør han opmærksom paa, at Gjærcellernes Form og Størrelse er meget variabel, og at Sporernes Størrelseforhold ejheller have systematisk Værdi, og han betegner Reess's systematiske Bygning som et primitivt og forfejlet Forsøg. Saavel i denne som i den foregaaende Afhandling fremhæver han paa flere Steder stærkt, hvilken vigtig Opgave det er at studere Gjærformerne, men tillige hvor overordentligt vanskeligt det er paa dette Omraade at skaffe sig virkelige Renkulturer og dernæst at prøve Formernes fysiologiske og morfologiske Ejendommeligheder. Han bebuder i den Retning nye Undersøgelser; men de ere ikke udkomne.

Efter Tidsfølgen komme vi dernæst til Pasteur's berømte Bog om Øllet og dets Sygdomme. I de meget udførlige Meddelelser, som her ere givne om Saccharomyces-Arterne, finde vi mærkelig nok ikke en eneste Undersøgelse over Askosporedannelsen. Paa de Steder i Bogen, hvor Talen er herom, henvises nemlig kun til J. de Seynes, Reess og Engel[1]).

---

[1]) Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148 og 170.

Det blev foran berørt, at der kunde være nogen Tvivl om, hvorvidt Saccharomyces Mycoderma udvikler Askosporer eller ej. I dette Spørgsmaal har Pathologen Grawitz[1]) sluttet sig til de Forskere, der paastaa, at de have iagttaget Askosporer hos den nævnte Art. Han kalder dem »Dauersporen« og beskriver, hvorledes de udvikle sig i Mycoderma vini-Koloniernes Sideknopper; ligeledes meddeler han at have iagttaget, at de spire med gjærsvampelignende Knopper. For Grawitz er den ovennævnte Art identisk med Oidium albicans eller Trøskesvampen.

Imod Rigtigheden af denne Opfattelse har Reess rejst begrundede Indvendinger, og han har tillige fremhævet, at den virkelige Trøskesvamp ikke danner Askosporer[2]). Vi staa altsaa her atter overfor det Usikre; Opfattelserne svinge frem og tilbage.

Medens de foregaaende Forfattere trods den Uoverensstemmelse, der paa flere Punkter findes i deres Meddelelser, dog alle ere enige i at opfatte Askosporerne hos Gjærcellerne som normale Formeringsorganer, traadte den franske Botaniker van Tieghem op med en hel anden og meget pikant Tydning[3]), der ved det pirrende Nye deri absolut maatte vække Opmærksomhed. Askosporedannelsen antages af ham at skyldes en Sygdomstilstand, hvori Protoplasmaet skulde indtræde derved, at vedkommende Celle udenfra bliver angreben af Bakterier. De Dele af Protoplasmaet, der ere nærmest Angrebspunkterne, antages at blive tilintetgjorte, medens derimod det Øvrige trækker sig tilbage, isolerer sig i Partier, som derpaa afrundes og endelig tilsidst omgive sig med en Væg, hvormed da Askosporerne ere færdige. **Jeg har underkastet Spørgsmaalet en experimental Prøve, som nærmere beskrives i det Følgende; den har vist, at van Tieghem's Opfattelse er aldeles greben ud af Luften.**

I 1880 indførte Wiesner Undersøgelserne over Askosporedannelsen hos Gjærceller som et nyt Led i den tekniske Varekundskab[4]);

---

[1]) Grawitz, Beiträge zur systemat. Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. (Virchow's-Archiv, 70 B. 1877, p. 546—598.)

[2]) Reess, Ueber den Soorpilz. (Sitzungsbericht der physikalisch-medicinischen Societät zu Erlangen. Sitzung vom 9 Juli 1877. Botan. Zeitung 1878, p. 201.)

[3]) Ph. van Tieghem, Troisième Mémoire sur Les Mucorinées. (Extrait des ann. des sc. nat. Botanique, 6 série, IV, 1878, p. 9.)

[4]) Bedeutung der technischen Rohstofflehre (techn. Waarenkunde) als selbständiger Disciplin und über deren Behandlung als Lehrgegen-

han mente, at han herved havde opdaget et Middel til at prøve, om Pressegjær var forfalsket med Ølgjær eller ej. »Jeg har overtydet mig om,« siger han, »at Pressegjæren, som den gaar i Handelen ogsaa undertiden er forfalsket med Ølgjær. En saadan Tilsætning betaler sig aabenbart kun, naar der benyttes større Mængder af Forfalskningsmidlet; men derved faar Pressegjæren en brunladen Farve, og denne maa atter skaffes bort ved Tilsætning af Stivelse. Kjøberne forurettes altsaa i høj Grad ved Forfalskningen. Man staar imidlertid temmelig magtesløs overfor dette Bedrageri. Den mikroskopiske Undersøgelse hjælper intet; thi Pressegjærens (Brændevinsgjærens) Celler kunne ikke direkte skjelnes fra Ølgjærens, og da der desuden til Forfalskningen kun anvendes meget ren Ølgjær, som er temmelig fri for Humlebestanddele, saa har man ejheller megen Udsigt til ved Hjælp af disse at komme paa Spor efter Sammenhængen. Jeg har nu udfundet en Methode, ved hvilken man kan paavise denne Forfalskning. Det er opdaget af Reess, at Gjærcellerne under Vegetationsbetingelser, der passe for Udviklingen af Skimmelsvampe, kunne i deres Indre danne flere, i Almindelighed fire Celler, de saakaldte Askosporer. Jeg har for første Gang gjort den Iagttagelse, at Pressegjærens Celler ikke formaa at udvikle disse, og senere blev der af E. Schumacher i mit Laboratorium og derpaa af den udmærkede Mykolog Brefeld leveret Beviser for, at Askosporedannelsen slet ikke forekommer hos Brændevinsgjæren, men at Formeringen af dennes Celler udelukkende foregaar ved Knopskydning. Herved adskiller den sig fra Ølgjæren, og man har saaledes et Middel til at paavise, om der i en forelagt Prøve Pressegjær findes Ølgjær eller ej. Man udbreder i et tyndt Lag den Gjær, der skal undersøges, paa Skiver af Rugbrød, kogte Kartofler eller Gulerødder og lader det Hele henstaa i et absolut fugtigt Rum ved en Middeltemperatur. Hvis der virkelig er Ølgjær tilstede, vil man da efter nogle Dages Forløb ved Hjælp af Mikroskopet finde Askosporer.«

Saadanne Meddelelser ere ikke skikkede til at forøge Praktikernes Agtelse for videnskabelige Forskningers Betydning. For det Første er, som vi allerede af mine foregaaende Bemærkninger kunne lære, Wiesner's Meddelelse om, at Pressegjær ikke skulde kunne danne Askosporer, aldeles urigtig. Alle de af mig undersøgte Prøver af Pressegjær have været ligesaa villige til at danne

stand an techn. Hochschulen, von Dr. Jul. Wiesner, Prof. an der Wiener Universität. (Dingler's Polytechnisches Journal, 237 B. Jahrg. 1880, p. 407 und folg.).

Askosporer som Ølovergjær og endog meget villigere end Olundergjæren; jeg har jo endog gjentagne Gange gjort Forsøgene med Pressegjær fra selve Wien, nemlig fra Mautner's berømte Fabrik. Dernæst har Wiesner paa en mærkelig Maade rent misforstaaet, hvad Brefeld og hans egen Discipel Schumacher skrev. Den Første mener, som ovenfor anført, at al Kulturgjær, ogsaa Ølgjær, har tabt Evnen til at danne denne Fruktifikation, og sidstnævnte meddeler jo netop, at Pressegjæren formaar at udvikle den. Her kan der ligeledes passende erindres om, at der i Pressegjæren som Regel altid forekommer en større eller mindre Indblanding af vild Gjær, og om dennes Celler fremhæver jo netop Brefeld, at de med Lethed udvikle Askosporer. Der er altsaa ingen af de to Forfattere, der støtter Wiesner's Opfattelse.

Urigtige Methoder og vildledende Meddelelser kunne navnlig paa dette Omraade stifte megen Skade og dobbelt, naar de komme frem under en berømt Videnskabsmands Autoritet. De blive da i Almindelighed tagne som Trossætninger og sætte sig ofte i længere Tid fast i de tekniske Laboratorier. Disse kunne jo ogsaa umuligt ved selvstændige Undersøgelser prøve Alt, hvad der kommer frem, dertil bevæge deres Arbejder sig paa et altfor stort og forskjelligartet Omraade. Det kan næppe undgaas, at der i Stridsspørgsmaal, om en Forfalskning har fundet Sted eller ej, gives Erklæringer, som i god Tro ene støtte sig til saadanne Analyser som de foran berørte. Hvilken Uret og Forvirring, der under saadanne Forhold kan opstaa, er af sig selv indlysende. Med disse Betragtninger skrinlægges saa Wiesner's nye tekniske Methode.

Der er endnu et Arbejde at undersøge i denne kuriøse Kjæde af Modsigelser og ofte løse Angivelser, som jeg fra de sidst forløbne femten Aars Historie har draget frem til kritisk Belysning. Dette Arbejde skyldes Kern[1]) og handler om den i Kaukasus ved Gjæring af Komælk tilberedte Drik Kephir[1]). Gjærcellerne, som ere virksomme herved, henfører han til Sacch. cerevisiæ, og da det er en Kulturform, finder han det i sin Orden, at det ikke lykkedes for ham at faa den til at udvikle Askosporer.

Spørge vi til Slutningen om, hvilke sikre Resultater de undersøgte Arbejder have bragt, saa se vi, at de egentlig

---

[1]) Kern, Ueber ein Milchferment des Kaukasus. (Botan. Zeit. XL. 1882, p. 264 og Biolog. Centralblatt 1882. 1 Maj.)

indskrænke sig til de Oplysninger, som navnlig skyldes Reess, nemlig at Arter af Slægten Saccharomyces under visse, endnu overfladisk kjendte Vilkaar, kunne danne endogene Celler, og at disse i passende Næringsvædsker udvikle sig til vegetative Celler med Knopskydning.

Forøvrigt strides der frem og tilbage, uden at en bestemt Afgjørelse til den ene eller anden Side opnaas, thi de exakte Methoder, som ene kunde have ført hertil, manglede.

Undersøgelserne over Askosporerne staa i nøje Forbindelse med det fundamentale Spørgsmaal om Begrændsningen af Saccharomyces-Arterne, et Spørgsmaal, der er af den største Betydning saavel for Gjæringstekniken som for Fysiologien. For Praktikerne har Sagen to Sider: Kunne disse forskjellige Arter, som siges at være tilstede, tages i planmæssig Kultur og tvinges til at give os Produkter med andre og bedre Egenskaber end de, vore nuværende have? Eller: Gribe de vilde Gjærarter forstyrrende ind i den Drift, vi nu føre? Og hvorledes skulle vi da værge os imod dem? Men i alle Tilfælde er der det samme vigtige Spørgsmaal: Hvorledes skulle vi faa fat paa dem for at underkaste dem en Prøve, og hvorpaa kunne vi kjende dem?

De Forskere, der siden Udgivelsen af Reess's systematiske Arbejde have anstillet experimentelle fysiologiske Undersøgelser med Alkoholgjærsvampene, have vel i Regelen set, at der ogsaa til dem forelaa saadanne ubehagelige Spørgsmaal, men de have da skudt dem tilside, stolende paa, at man vel kunde komme igjennem uden at tage Hensyn dertil. Al Kulturgjær blev raskvæk taget under Et som Sacch. cerevisiæ. I Experimenterne blev der i det Højeste kun skjelnet mellem Over- og Undergjær. Men om den ene var lidt forurenet af den anden, eller om der i Kulturgjæren fandtes vild Gjær, dertil tog man intet Hensyn, man stod jo ogsaa i Virkeligheden værgeløs overfor Tilfældet og formaaede slet ikke at anstille nogen Prøve. Forskningen skred saaledes frem ad denne ikke meget videnskabelige Bane, hvor der bestandig blev experimenteret med ubekjendte Størrelser, som dog ved Regnestykkets Opgjørelse bleve indførte som værende bekjendte. Man trøstede sig med, at i fysiologisk Henseende maatte forhaabentlig disse kjedelige Arter, som muligvis dog vare tilstede, forholde sig ens, men gjorde heri Regning uden Vært. I mine sidste Arbejder paaviste jeg f. Ex., at der er nogle Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler, som i Modsætning til den øvrige større Rest kun have Alkoholgjærvirksomheden uden at være i Besiddelse af Evne til at udsondre In-

vertin[1]). Og i mine følgende Afhandlinger vil der blive givet Exempler paa, at der ogsaa indenfor den Gruppe Saccharomyces-Arter, som have begge Fermentvirksomhederne, findes fremtrædende fysiologiske Differenser.

Anbringes der i samme Næringsvædske to Gjærsvampe, en med svag og en anden med kraftig Alkoholgjæringsevne, saa vil den svage vel som Regel bukke under i den stedfindende Konkurrence, men dog paa sin Side hæmme den stærkere Rival noget[2]). Have nu de to kæmpende Gjærarter samme Udseende, hvilket almindelig finder Sted, bliver Følgen, som Sagerne staa i Øjeblikket, at den experimenterende Fysiolog bliver skuffet, idet han tilskriver en af Arterne de Resultater, som kun komme frem derved, at to indbyrdes forskjellige konkurrerede om samme Næringsbund. Saadanne Vildfarelser have hyppig fundet Sted, og hvis de begaaede Fejl ikke, naar Eftersynet en Gang foretages, vise sig at være meget store, da skyldes dette et Held og ikke den anvendte Methode.

Der er skrevet og talt meget om Bryggerigjærens Udarten; de udenlandske Tidsskrifter indeholde jævnlig Afhandlinger derom, skrevne af de mest ansete Gjæringsteknikere. Denne Udarten tilskrives Maltets, Vandets og andre Faktorers Indflydelse. Men se vi nøjere paa disse Betragtninger, saa finde vi, at det Hele er en dunkel, svævende Tale uden sikker Begrundelse og aldeles blottet for paalidelige experimentelle Undersøgelser. Hvori bestaar da denne Udarten? Hvoraf vide vi, at Sacch. cerevisiæ overhovedet kan udarte? Svaret er i Virkeligheden hurtig givet: Vi vide i Øjeblikket endnu ikke, hvad Sacch. cerevisiæ er!

Først naar det er afgjort, om der findes forskjellige Arter og Racer eller ej, og Karaktererne for disse ere udfundne, erholde de for Theori og Praxis lige vigtige fysiologiske Undersøgelser sikre Udgangspunkter. Først da kan der med Udsigt til at naa en tilfredsstillende Løsning af Spørgsmaalene, der idelig trænge sig frem for os, tages fat paa Studiet af de enkelte Arters Virksomheder, af Lovene for de meget komplicerede Forhold, der op-

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 1881, p. 315) og: Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Samme Tidsskrift I B. 1882, p. 412.)

[2]) Se min citerede Afhandling Om Sacch. apiculatus p. 323.

han mente, at han herved havde opdaget et Middel til at prøve, om Pressegjær var forfalsket med Ølgjær eller ej. »Jeg har overtydet mig om,« siger han, »at Pressegjæren, som den gaar i Handelen ogsaa undertiden er forfalsket med Ølgjær. En saadan Tilsætning betaler sig aabenbart kun, naar der benyttes større Mængder af Forfalskningsmidlet; men derved faar Pressegjæren en brunladen Farve, og denne maa atter skaffes bort ved Tilsætning af Stivelse. Kjøberne forurettes altsaa i høj Grad ved Forfalskningen. Man staar imidlertid temmelig magtesløs overfor dette Bedrageri. Den mikroskopiske Undersøgelse hjælper intet; thi Pressegjærens (Brændevinsgjærens) Celler kunne ikke direkte skjelnes fra Ølgjærens, og da der desuden til Forfalskningen kun anvendes meget ren Ølgjær, som er temmelig fri for Humlebestanddele, saa har man ejheller megen Udsigt til ved Hjælp af disse at komme paa Spor efter Sammenhængen. Jeg har nu udfundet en Methode, ved hvilken man kan paavise denne Forfalskning. Det er opdaget af Reess, at Gjærcellerne under Vegetationsbetingelser, der passe for Udviklingen af Skimmelsvampe, kunne i deres Indre danne flere, i Almindelighed fire Celler, de saakaldte Askosporer. Jeg har for første Gang gjort den Iagttagelse, at Pressegjærens Celler ikke formaa at udvikle disse, og senere blev der af E. Schumacher i mit Laboratorium og derpaa af den udmærkede Mykolog Brefeld leveret Beviser for, at Askosporedannelsen slet ikke forekommer hos Brændevinsgjæren, men at Formeringen af dennes Celler udelukkende foregaar ved Knopskydning. Herved adskiller den sig fra Ølgjæren, og man har saaledes et Middel til at paavise, om der i en forelagt Prøve Pressegjær findes Ølgjær eller ej. Man udbreder i et tyndt Lag den Gjær, der skal undersøges, paa Skiver af Rugbrød, kogte Kartofler eller Gulerødder og lader det Hele henstaa i et absolut fugtigt Rum ved en Middeltemperatur. Hvis der virkelig er Ølgjær tilstede, vil man da efter nogle Dages Forløb ved Hjælp af Mikroskopet finde Askosporer.«

Saadanne Meddelelser ere ikke skikkede til at forøge Praktikernes Agtelse for videnskabelige Forskningers Betydning. For det Første er, som vi allerede af mine foregaaende Bemærkninger kunne lære, Wiesner's Meddelelse om, at Pressegjær ikke skulde kunne danne Askosporer, aldeles urigtig. Alle de af mig undersøgte Prøver af Pressegjær have været ligesaa villige til at danne

stand an techn. Hochschulen, von Dr. Jul. Wiesner, Prof. an der Wiener Universität. (Dingler's Polytechnisches Journal, 237 B. Jahrg. 1880, p. 407 und folg.).

Askosporer som Ølovergjær og endog meget villigere end Ølundergjæren; jeg har jo endog gjentagne Gange gjort Forsøgene med Pressegjær fra selve Wien, nemlig fra Mautner's berømte Fabrik. Dernæst har Wiesner paa en mærkelig Maade rent misforstaaet, hvad Brefeld og hans egen Discipel Schumacher skrev. Den Første mener, som ovenfor anført, at al Kulturgjær, ogsaa Ølgjær, har tabt Evnen til at danne denne Fruktifikation, og sidstnævnte meddeler jo netop, at Pressegjæren formaar at udvikle den. Her kan der ligeledes passende erindres om, at der i Pressegjæren som Regel altid forekommer en større eller mindre Indblanding af vild Gjær, og om dennes Celler fremhæver jo netop Brefeld, at de med Lethed udvikle Askosporer. Der er altsaa ingen af de to Forfattere, der støtter Wiesner's Opfattelse.

Urigtige Methoder og vildledende Meddelelser kunne navnlig paa dette Omraade stifte megen Skade og dobbelt, naar de komme frem under en berømt Videnskabsmands Autoritet. De blive da i Almindelighed tagne som Trossætninger og sætte sig ofte i længere Tid fast i de tekniske Laboratorier. Disse kunne jo ogsaa umuligt ved selvstændige Undersøgelser prøve Alt, hvad der kommer frem, dertil bevæge deres Arbejder sig paa et altfor stort og forskjelligartet Omraade. Det kan næppe undgaas, at der i Stridsspørgsmaal, om en Forfalskning har fundet Sted eller ej, gives Erklæringer, som i god Tro ene støtte sig til saadanne Analyser som de foran berørte. Hvilken Uret og Forvirring, der under saadanne Forhold kan opstaa, er af sig selv indlysende. **Med disse Betragtninger skrinlægges saa Wiesner's nye tekniske Methode.**

Der er endnu et Arbejde at undersøge i denne kuriøse Kjæde af Modsigelser og ofte løse Angivelser, som jeg fra de sidst forløbne femten Aars Historie har draget frem til kritisk Belysning. Dette Arbejde skyldes Kern[1]) og handler om den i Kaukasus ved Gjæring af Komælk tilberedte Drik Kephir[1]). Gjærcellerne, som ere virksomme herved, henfører han til Sacch. cerevisiæ, og da det er en Kulturform, finder han det i sin Orden, at det ikke lykkedes for ham at faa den til at udvikle Askosporer.

Spørge vi til Slutningen om, hvilke sikre Resultater de undersøgte Arbejder have bragt, saa se vi, at de egentlig

[1]) Kern, Ueber ein Milchferment des Kaukasus. (Botan. Zeit. XL. 1882, p. 264 og Biolog. Centralblatt 1882. 1 Maj.)



indskrænke sig til de Oplysninger, som navnlig skyldes Reess, nemlig at Arter af Slægten Saccharomyces under visse, endnu overfladisk kjendte Vilkaar, kunne danne endogene Celler, og at disse i passende Næringsvædsker udvikle sig til vegetative Celler med Knopskydning.

Forøvrigt strides der frem og tilbage, uden at en bestemt Afgjørelse til den ene eller anden Side opnaas, thi de exakte Methoder, som ene kunde have ført hertil, manglede.

Undersøgelserne over Askosporerne staa i nøje Forbindelse med det fundamentale Spørgsmaal om Begrændsningen af Saccharomyces-Arterne, et Spørgsmaal, der er af den største Betydning saavel for Gjæringstekniken som for Fysiologien. For Praktikerne har Sagen to Sider: Kunne disse forskjellige Arter, som siges at være tilstede, tages i planmæssig Kultur og tvinges til at give os Produkter med andre og bedre Egenskaber end de, vore nuværende have? Eller: Gribe de vilde Gjærarter forstyrrende ind i den Drift, vi nu føre? Og hvorledes skulle vi da værge os imod dem? Men i alle Tilfælde er der det samme vigtige Spørgsmaal: Hvorledes skulle vi faa fat paa dem for at underkaste dem en Prøve, og hvorpaa kunne vi kjende dem?

De Forskere, der siden Udgivelsen af Reess's systematiske Arbejde have anstillet experimentelle fysiologiske Undersøgelser med Alkoholgjærsvampene, have vel i Regelen set, at der ogsaa til dem forelaa saadanne ubehagelige Spørgsmaal, men de have da skudt dem tilside, stolende paa, at man vel kunde komme igjennem uden at tage Hensyn dertil. Al Kulturgjær blev raskvæk taget under Et som Sacch. cerevisiæ. I Experimenterne blev der i det Højeste kun skjelnet mellem Over- og Undergjær. Men om den ene var lidt forurenet af den anden, eller om der i Kulturgjæren fandtes vild Gjær, dertil tog man intet Hensyn, man stod jo ogsaa i Virkeligheden værgeløs overfor Tilfældet og formaaede slet ikke at anstille nogen Prøve. Forskningen skred saaledes frem ad denne ikke meget videnskabelige Bane, hvor der bestandig blev experimenteret med ubekjendte Størrelser, som dog ved Regnestykkets Opgjørelse bleve indførte som værende bekjendte. Man trøstede sig med, at i fysiologisk Henseende maatte forhaabentlig disse kjedelige Arter, som muligvis dog vare tilstede, forholde sig ens, men gjorde heri Regning uden Vært. I mine sidste Arbejder paaviste jeg f. Ex., at der er nogle Gjærsvampe og gjærsvampelignende Celler, som i Modsætning til den øvrige større Rest kun have Alkoholgjærvirksomheden uden at være i Besiddelse af Evne til at udsondre In-

vertin[1]). Og i mine følgende Afhandlinger vil der blive givet Exempler paa, at der ogsaa indenfor den Gruppe Saccharomyces-Arter, som have begge Fermentvirksomhederne, findes fremtrædende fysiologiske Differenser.

Anbringes der i samme Næringsvædske to Gjærsvampe, en med svag og en anden med kraftig Alkoholgjæringsevne, saa vil den svage vel som Regel bukke under i den stedfindende Konkurrence, men dog paa sin Side hæmme den stærkere Rival noget[2]). Have nu de to kæmpende Gjærarter samme Udseende, hvilket almindelig finder Sted, bliver Følgen, som Sagerne staa i Øjeblikket, at den experimenterende Fysiolog bliver skuffet, idet han tilskriver en af Arterne de Resultater, som kun komme frem derved, at to indbyrdes forskjellige konkurrerede om samme Næringsbund. Saadanne Vildfarelser have hyppig fundet Sted, og hvis de begaaede Fejl ikke, naar Eftersynet en Gang foretages, vise sig at være meget store, da skyldes dette et Held og ikke den anvendte Methode.

Der er skrevet og talt meget om Bryggerigjærens Udarten; de udenlandske Tidsskrifter indeholde jævnlig Afhandlinger derom, skrevne af de mest ansete Gjæringsteknikere. Denne Udarten tilskrives Maltets, Vandets og andre Faktorers Indflydelse. Men se vi nøjere paa disse Betragtninger, saa finde vi, at det Hele er en dunkel, svævende Tale uden sikker Begrundelse og aldeles blottet for paalidelige experimentelle Undersøgelser. Hvori bestaar da denne Udarten? Hvoraf vide vi, at Sacch. cerevisiæ overhovedet kan udarte? Svaret er i Virkeligheden hurtig givet: Vi vide i Øjeblikket endnu ikke, hvad Sacch. cerevisiæ er!

Først naar det er afgjort, om der findes forskjellige Arter og Racer eller ej, og Karaktererne for disse ere udfundne, erholde de for Theori og Praxis lige vigtige fysiologiske Undersøgelser sikre Udgangspunkter. Først da kan der med Udsigt til at naa en tilfredsstillende Løsning af Spørgsmaalene, der idelig trænge sig frem for os, tages fat paa Studiet af de enkelte Arters Virksomheder, af Lovene for de meget komplicerede Forhold, der op-

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 1881, p. 315) og: Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Samme Tidsskrift I B. 1882, p. 412.)

[2]) Se min citerede Afhandling Om Sacch. apiculatus p. 323.

staa, naar de befinde sig i indbyrdes Konkurrence eller i Konkurrence med helt andre Organismer, f. Ex. med Bakterier, af Forholdene mellem Over- og Undergjær, af Betingelserne for Varieteternes Fremkomst, af disses fysiologiske Virksomheder og hele Forhold til Stamformerne.

Da jeg i 1878 udarbejdede mit ovenfor berørte Skrift, »Organismer i Øl og Ølurt«, var jeg mig de foran fremdragne Spørgsmaal og Krav bevidst, og indsaa, at det ikke var muligt at komme videre ad den af mine Forgængere betraadte Vej; jeg indskrænkede mig derfor hovedsagelig til i min Omtale af Slægten Saccharomyces at henvise til de foreliggende Arbejder, idet jeg gjorde opmærksom paa, hvor usikker vor Viden var, og udtalte, at Undersøgelserne, naar de virkelig skulde bringes ud over, hvad navnlig Reess og Pasteur havde givet, maatte tages fra helt andre Synspunkter end forhen. Den for Experimentet lettest tilgængelige Art, Sacch. apiculatus, underkastede jeg, som foran berørt, først en Undersøgelse i forskjellige Retninger, og Sagen gik her forholdsvis let, men meget store Vanskeligheder beredte derimod de øvrige Arter mig. Uagtet jeg i Løbet af de henrundne Aar uafbrudt spejdede efter Nøglen til Problemets Løsning, lykkedes det mig dog først i Slutningen af Aaret 1881 at opdage denne, og da de nødvendige Prøver vare blevne gjennemførte, offentliggjorde jeg en kort Meddelelse derom det følgende Aar i Laboratoriets Tidsskrift I B. p. 400.

Herved føres nu denne Forskning ind paa nye Baner, ad hvilke forhaabentlig en Reform vil blive opnaaet.

I en Række Afhandlinger agter jeg efterhaanden at behandle de enkelte Led hver for sig i den store Kjæde af Undersøgelser, der kræves. Nærværende Bidrag skal hovedsagelig handle om den Indflydelse, som forskjellige Varmegrader udøve paa Dannelsen af Askosporerne.

Methoder.

Den, der vil foretage experimentelle Undersøgelser over Alkoholgjærsvampene, bliver naturlig ført ind paa et nøje Studium af Pasteurs »Études sur la bière«; denne Bog er nemlig Hovedværket.

Det fjerde Kapitel deri handler om det vigtige Spørgsmaal, Renkulturer, og iblandt de Former, hvormed der experimenteres, findes ogsaa en af de Organismer, som Rees henfører til Slægten Saccharomyces, nemlig Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini) p. 109.

Fra Vin, hvor den havde dannet en Hinde, blev den overført i Ølurt og herfra i en Blanding af Gjærvand og Sukker og endelig atter i Ølurt. Til Forsøgene benyttede Pasteur som sædvanlig sine bekjendte Kolber med et ret, kort og et bøjet, langt Rør (se hans Fig. 22), og Udsædene bleve foretagne ved Hjælp af en i Forvejen flammerenset Platintraad. Med denne toges hver Gang af vedkommende Hinde kun en Ubetydelighed, som derpaa hurtigt blev overført i den nye Kolbe. Bestandig blev der sørget for, at de paagjældende Kolber kun et Øjeblik vare aabnede. »Paa denne Maade,« siger Pasteur, »fjerner man efterhaanden alle fremmede Kim, og da navnlig Mycoderma aceti, den sædvanlige Ledsager af Mycoderma vini. Myc. aceti formerer sig nemlig meget vanskelig i neutrale, sukkerholdige Vædsker. I Løbet af nogle faa Dage har der udviklet sig en Hinde, som ser ud til at være aldeles ren, og den mikroskopiske Undersøgelse viser, at den virkelig er fri for Myc. aceti, Mælkesyrebakterier etc.« Dette er Pasteur's Renkulturer.

Der er her to Sider at lægge Mærke til, nemlig hvorledes han tilvejebringer Renkulturen, og dernæst hvorledes han under Experimenterne bevarer den ubesmittet af Infektion udenfra. Hvad den førstnævnte Side angaar, saa have vi ovenfor set, at han søger at naa sit Maal derved, at han i en Række Kulturer bestandig begunstiger den Organisme, som han ønsker at beholde ene tilbage, og samtidig dermed søger at hæmme Udviklingen af den eller dem, som han vil fjerne. I det beskrevne Forsøg viste den mikroskopiske Undersøgelse, at der paa et vist Stadium hverken fandtes Bakterier eller Skimmelsvampe, og at Hinden kun bestod af gjærsvampelignende Celler. Hermed lader Pasteur sig saa nøje, og tager det for givet, at disse gjærsvampelignende Celler alle tilhøre een Art. Derfor har han imidlertid ingen Sikkerhed. Der gives nemlig flere Arter med saadanne Celler, der under de omtalte Ernæringsforhold kunne danne Hinder, og som ved den mikroskopiske Undersøgelse ikke kunne skjelnes fra hverandre; ja, der kan i Hinden endog være kommen Celler af Gjærsvampe, hvis Natur det ellers er at leve som Bundgjær, og da disse ofte have samme Form og overhovedet samme Udseende som de egentlig hindedannende Arters, vil det følgelig ikke være muligt at opdage dem ved en blot og bar mikroskopisk Prøve. Ved sin Dyrkningsmaade har Pasteur kun kunnet fjerne de Organismer, der under de af ham fremstillede Ernæringsforhold ikke formaaede at udholde Konkurrencen med den begunstigede, men sammen med den kan der leve en hel Skare (nemlig alle dem, der have nogen-

lunde samme Ernæringsvilkaar som førstnævnte), uden at de i nogen synderlig Grad behøve at genere hverandre. Det er, kort sagt, umuligt at indrette Dyrkningen saaledes, at kun een eneste af de talrige existerende Arter derved begunstiges. Denne Fremgangsmaade vil altsaa kun med nogen Sikkerhed kunne anvendes i saadanne sjældne Tilfælde, hvor man har Arter med saa tydelige Karakterer, at de ikke let forvexles med andre, og hvor en Kontrol er mulig.

Lader os imidlertid antage, at Pasteur har været heldig og virkelig har opnaaet en Renkultur; vi komme da til Sagens anden Side: hvorledes bevares den? Hertil yde hans foran omtalte Kolber en udmærket Hjælp. Med Hensyn til deres Anvendelse henvises til de udførlige Beskrivelser, der findes i hans nævnte Bog, p. 29 o. flg. Disse Kolber kunne navnlig anbefales i saadanne Tilfælde, hvor man i længere Tid maa dyrke en eller anden Mikroorganisme i en Næringsvædske og hyppig er nødsaget til at forny denne, ligeledes naar man for at kunne udføre en kemisk Analyse eller af andre Grunde maa anvende store Vædskemængder til Dyrkningen, og fremfor alt, naar man skal arbejde med Gjæringsorganismer, som fremkalde stærk Luftudvikling og Skumdannelse. Paa Carlsberg Laboratoriet blive de anvendte i Størrelser fra $^1/_8$ til $1^1/_4$ Liter hver. De kunne naturligvis efter de forskjellige Formaal gives Tillæmpninger.

Naar Pasteur taler om ren Gjær, ogsaa naar han benytter det stærke Udtryk »absolument pure«, maa dette i Følge det Foregaaende ikke forstaas, som om der er Tale om en eneste Gjærart, men kun saaledes, at den saakaldte rene Gjær er fri for Bakterier og Skimmelsvampe. Selv siger han Intet tydeligt om sin Fremgangsmaades Grændse; det ses derfor ikke, om han har erkjendt denne; men stærkt træder det Mangelfulde i hans Methode frem i de Partier af Bogen, der handle om hans »Dematium — levûre« (Sacch. Pastorianus), »levûre caséeuse« og »levûres aérobies«.

Paa nogle Steder (f. Ex. p. 164 og 165) siger han ligefrem, at Sacch. Pastorianus er en Udviklingsform af en Skimmelsvamp (Dematium), der almindelig findes paa Druerne; paa andre Steder (p. 170, 171 og 177) udtaler han sig derimod i svævende Udtryk, og det ses tydeligt, at han ikke har kunnet komme til nogen bestemt Afgjørelse. Denne Uklarhed træder ogsaa frem paa andre Punkter i hans Meddelelser om Sacch. Pastorianus, f. Ex. p. 166, hvor han ikke har kunnet afgjøre, om de af ham iagttagne runde og langstrakte Celler virkelig høre genetisk sammen i een Udviklingsrække.

Et svagt Punkt i den Henseende er ligeledes hans Undersøgelser over »levûre caséeuse«, p. 196. Pasteur siger at have erholdt denne mærkelige Gjær paa følgende Maade: I en af hans Kolber blev Ølurt, hvortil der var sat Alkohol og en Vinstensopløsning, opvarmet i et Vandbad, indtil denne Blanding havde erholdt en Temperatur af 50° C. Derpaa blev Kolben inficeret med Overgjær, som den forefindes i Brændevinsbrænderierne og Bryggerierne, og, da dette var sket, udsat for den nævnte Temperatur i Vandbadet i en Time. Han betegner dette som en Methode til at rense Gjær; hvorledes han er kommen ind derpaa, ses ikke. Vi skulle nu betragte det Resultat, som han opnaaede derved. Efterat Kolben med den paa den foran beskrevne Maade pinte Gjær havde staaet i nogle Dage, begyndte nogle af Cellerne at formere sig, og der indtraadte Gjæring. Der udviklede sig en meget mærkværdig Gjærform, som han paa Grund af det osteagtige Bundfald, som den siges at danne, kalder »levûre caséeuse«.

Det, vi nu navnlig kunde ønske at vide, er, om denne nye Gjær er kommen frem derved, at de udsaaede Overgjærceller ere blevne omdannede, eller om disse tvertimod ere blevne dræbte ved den strænge Behandling, og om det er en helt anden Gjærart, der har overlevet denne, og da en Gjærart, som ved Forsøgets Begyndelse fandtes indblandet i den Overgjær, som blev benyttet. Pasteur's Undersøgelser standse dog atter her, hvor det skarpe Spørgsmaal stilles, og Vanskelighederne begynde. Mest tilbøjelig synes han at være til at antage, at det er en i Overgjæren oprindelig indblandet fremmed Gjærart, der nu har trængt sig frem. De, som ønske nærmere Oplysninger herom, ville finde disse i en af mine følgende Afhandlinger.

Det Afsnit af hans Bog, der handler om »levûres aérobies«, p. 201 o. flg., lider af lignende Mangler som de netop foran berørte, og det vilde derfor kun blive en trættende Gjentagelse her nærmere at gaa ind derpaa.

P. 71 og p. 149 meddeler Pasteur, hvorledes man skal kunne udskille Sacch. apiculatus fra andre Gjærarter, naar den, som det hyppig sker, er sammenblandet med saadanne i Vindruemosten. I dette Øjemed anbefales at filtrere denne saaledes, at kun den klare Vædske løber igjennem Filteret. I denne filtrerede Most antager Pasteur, at man bestandig vil finde en Vegetation af Sacch. apiculatus, der er fri for de tidligere tilstedeværende andre Gjærarter. Hertil er at bemærke, at Sacch. apiculatus vel hører til de mindste Gjærsvampe, vi kjende, men at ogsaa andre Arter af samme Slægt, f. Ex. den meget omtalte Sacch. Pastorianus, kunne

danne Celler af en ligesaa ringe Størrelse. Mærkelig nok synes Pasteur rent at have glemt dette, skjøndt han dog selv p. 183 siger, at den sidstnævnte Art under visse Forhold kan danne Celler, som ere meget mindre end de normale, og antyder, at disse smaa Celler muligvis ere Reess's Sacch. exiguus. Hvorledes det forholder sig med denne Gisning, skulle vi ikke i Øjeblikket undersøge, men blot erindre om, at de omtalte smaa Gjærceller, der ikke høre til Sacch. apiculatus, altsaa ligesaa godt som dennes Celler kunne slippe igjennem Filteret. I de Tilfælde, hvor dette sker, faar man følgelig en Sammenblanding af flere Arter, og da Sacch. apiculatus har en meget svag Gjæringsevne, vil den over for de i Reglen meget stærkere Rivaler, med hvilke den kommer til at konkurrere, ikke under en længere Gjæring kunne hævde sig. Af den Grund kan Pasteur's Fremgangsmaade ikke anbefales; jeg valgte derfor ogsaa en anden i mine Experimenter med den nævnte Art[1]).

Vejen, ad hvilken en Renkultur under alle Omstændigheder vil kunne opnaas, lige meget hvilke fysiologiske og morfologiske Egenskaber vedkommende Mikroorganisme er i Besiddelse af, frembyder sig i Virkeligheden af sig selv, nemlig Udsæd af een eneste Celle i en i Forvejen steriliseret Næringsvædske paa en saadan Maade, at fremmede Organismer ikke under Dyrkningen kunne snige sig ind. Det vil være meget vanskeligt at udfinde, hvem der først har udtalt denne i sig selv saa simple og dog saa frugtbare Tanke. Flere Forskere have i de sidste Aar hver paa sin Maade stræbt at løse Problemet.

I Pasteur's Bog findes der p. 193 Tilløb i denne Retning. Han anbefaler at udtørre en Portion af den Gjær, hvormed man ønsker at operere, og derpaa omdanne den til et fint Støv. Dette Gjærstøv udkastes nu fra en passende Højde saaledes, at man ved nedenunder at aabne nogle Vakuumskolber med steriliseret Næringsvædske (disse beskrives i nærværende Tidsskrifts I Bind, 4 Hefte, p. 391) har Udsigt til at opfange en Del deraf. Hvis Tilfældet er En gunstig, kan det hænde, at en eller anden af Kolberne kan komme til at opfange een levende Gjærcelle, og denne vil følgelig i Næringsvædsken kunne grundlægge en virkelig Renkultur. Det, der bragte Pasteur ind paa denne Tankegang, var den Forestilling, at hver enkelt Celle i en Gjærmasse, tilhørende een og samme Art, og altsaa ligeledes hver enkelt Celle i en Koloni, udviklet af een Modercelle, maa have sine individuelle Ejendommeligheder, og

[1]) l. c. p. 313.

at man ved at dyrke hver Celle for sig ogsaa vilde kunne opnaa ligesaa mange forskjellige Slags Gjær, som der anstilles Kulturer, hver med een Celle som Udgangspunkt. Efter denne Tanke skal følgelig endog en lille Portion Gjær indeholde et uhyre Antal Varieteter og Muligheder til et endnu større. Karakterer, ved hvilke der kunde skjelnes imellem de Gjærvegetationer, der optraadte i Kolberne, havde Pasteur dog ikke.

Som man maatte vente, opnaaede han intet bestemt Resultat af sit Forsøg, og af hans Udtalelser synes det at fremgaa, at han kun har anstillet en flygtig Prøve dermed. Det er heller ikke blevet gjentaget hverken af ham selv eller af Andre.

Idet vi her have forsøgt at erholde et Overblik over de Methoder, Pasteur har anvendt for at fremstille Renkulturer af Saccharomyces-Arterne, maa vi erindre, at det er syv Aar siden, han udgav sit berømte Værk; hvis han nu skulde have skrevet det, vilde det sikkert paa flere Punkter være blevet anderledes.

Af det Foregaaende ses, at min Opgave maatte blive den: først at uddanne Methoden saaledes, at jeg kunde erholde Vegetationer, der hver for sig stammede fra een eneste Celle, og dernæst at udfinde, om disse Renkulturer frembyde konstante Karakterer, og i saa Fald, hvilke disse Karakterer ere.

I en af de omtalte Pasteurske tohalsede Kolber, hvori Vand ved Kogning var blevet steriliseret og derpaa atter afkjølet, anbragde jeg lidt af den Gjær, hvoraf jeg ønskede at erholde en Renkultur. Ved forberedende Kulturer havde jeg bestandig sørget for, at den ikke blot kom til at bestaa af unge, kraftige Celler, men ogsaa, saa vidt det var muligt, at Cellerne af den ønskede Art vare i Overvægt. Under temlig stærke Rystninger bleve Cellerne jævnt fordelte i Vandet. Prøver toges derpaa ud, for at jeg ved Tælning med Hæmatimetret kunde bestemme, hvormange Celler der fandtes i 1 Kub.-Cent. af Vandblandingen. Heraf blev der ved Beregning bestemt, i hvilken Grad Fortyndingen maatte fortsættes, for at man i 1 Kub.-Cent. af den endelige Vandblanding tilsidst kunde have f. Ex. 0,5 Celler. Af en Række Udsæd, hver paa 1 Kub.-Cent., skulde altsaa kun hver anden bringe en Gjærcelle med sig. For at kunne udføre denne Fortynding med tilstrækkelig Nøjagtighed og uden i højere Grad at være udsat for en udenfra kommende Infektion, var Guttaperkaslangen paa Kolbens

rette Hals delt i to Stykker, og imellem disse var der indskudt et passende Maalerør af Glas, hvilket for begge Ender kunde lukkes ved Hjælp af Klemhaner. Denne Kolbe blev paa sædvanlig Vis hurtig sat i Forbindelse med en anden, hvori der var steriliseret Vand, og efterat dette havde modtaget sine i Forvejen beregnede Maal af Infektionsvandet, beholdt sidstnævnte Kolbe, Nr. 2, Maaleapparatet, og sattes hermed i Forbindelse med en tredie Kolbe; efterat denne var bleven inficeret, blev paa lignende Vis en fjerde inficeret fra den, Alt efter den forudgaaede Beregning. Naar endelig den sidste Kolbe var færdig, og der til dens Guttaperkaslange var knyttet et Maalerør paa 1 Kub.-Cent., blev det nævnte Maal af det færdige Infektionsvand ført over i hver af et større Antal Kolber med Urt. Under det beskrevne Arbejde blev der sørget for, at Cellerne ved Rystning saa vidt muligt bleve jævnt fordelte, og Maalene toges bestandig i smaa Portioner, afbrudte ved gjentagne Rystninger af Vædsken; endvidere bleve altid de paagjældende Kolber saa hurtigt som muligt satte i Forbindelse med hinanden og atter hurtigt lukkede, efterat de et Øjeblik vare blevne aabnede. Forsøgene, som udførtes paa denne Maade, gave gode Resultater. Mangler klæbe dog derved; navnlig har man ingen Sikkerhed for, at der i Kolben med den færdige Infektionsvædske virkelig findes det Antal Celler, man forud har beregnet; det kan endog indtræffe, at der ikke er kommen en eneste Celle deri, ligesom ogsaa, at der kommer flere, end der var bestemt. Aarsagen hertil maa søges deri, at det er meget vanskeligt at opnaa en jævn Fordeling af Cellerne i de stærke Fortyndinger, hvormed man tilsidst kommer til at arbejde. Vanskeligheden træder især stærkt frem, naar Cellernes Antal er meget ringe i Forhold til den Vandmængde, hvori de findes, og naar der kun overføres smaa Maal fra Kolbe til Kolbe.

For at undgaa Fortyndingerne, der tilmed tage megen Tid, kan man anvende en anden Fremgangsmaade. Paa Midten af et Dækglas (Fig. 1) indridses et Kvadrat, hvis Side f. Ex. er 4 Millim., og dette inddeles atter i talrige smaa Kvadrater af en saadan Størrelse, at man kan overskue et af dem ved Hjælp af det Objektiv, man maa benytte for med Bestemthed at kunne skjelne en lille Gjærcelle. Størrelsen af det store Kvadrat er bestemt af det Formaal, at en meget lille Vanddraabe, hvori der er Gjærceller, skal kunne anbringes indenfor dets Omrids, og da Hensigten er at tælle disse, gjør man Kvadratet saa lille, som det paa nogen Maade gaar an; jo mindre

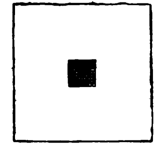


Fig. 1.

det er, desto hurtigere udføres nemlig Tælningen. Det Vigtigste for Prøven er imidlertid, at man nøje sørger for, at vedkommende Draabe ikke paa noget Sted kommer udenfor det store Kvadrats Grændser; dette vilde nemlig være det Samme som at anbringe Draaben paa et almindeligt, altsaa ikke kvadreret Dækglas, og Kontrollen vilde følgelig høre op. Naar Draaben er anbragt, maa den ikke være for stærkt hvælvet, hvis man med Sikkerhed skal kunne se Alt, hvad den indeholder. De smaa Kvadrater ere indridsede for at give Holdepunkter for Tælningen. Forskjellen mellem dette og Hayem's Tælleapparat bestaar deri, at med sidstnævnte kan man kun udskjære Partier af vedkommende Draabe, men ikke bestemme ved direkte Tælning, hvad hele Draaben indeholder; dette er derimod muligt ved Hjælp af mit kvadrerede Dækglas. For at Vandet ikke skal fordampe, og Cellerne indtørre, maa det omtalte Dækglas med sin Draabe forbindes med et fugtigt Kammer. At lægge det efter sædvanlig Vis paa et Objektglas gaar ikke an; thi Draaben vil da flyde udenfor Grændserne. Til Mikroskoper af sædvanlig Konstruktion benyttes Böttcher's Kammer, hvoraf hosstaaende Fig. 2 giver et lodret Gjennemsnit; *a* er det kvadrerede Dækglas med sin hængende Draabe, *b*; *c* er Kammeret; *d* er et Vandlag, der er anbragt paa Bunden for at hindre Fordampningen. Anvendes et af Nachet's saakaldte »Microscopes renversés« kan det af mig dertil konstruerede Kammer benyttes; i saa Fald faar Draaben et roligere Leje, idet den nemlig bliver opadvendt[1]). I en Kolbe med steriliseret Vand anbringes lidt af den Gjær, hvormed Forsøget skal udføres, og efterat Cellerne ved Rystning ere blevne jævnt fordelte, tages med en tynd Glasstang eller med en dertil passende Platintraad en lille Draabe, som anbringes i det store Kvadrat paa det omtalte Dækglas. Dette fæstnes til det fugtige Kammer, og Tælningen finder nu Sted. Er Draaben for rig paa Celler, saa at en Tælning er umulig, maa der naturligvis laves et nyt Præparat af en stærkere fortyndet Blanding. Ved lidt Erfaring vil man dog næsten altid være sikker paa strax at gribe det Rette. Det er det

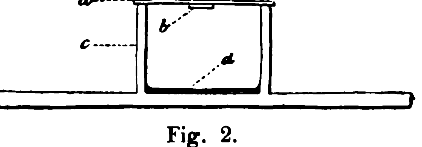


Fig. 2.

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Et fugtigt Kammer til Dyrkning af Mikroorganismer. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet I B. 3 Hefte, 1881, p. 328.)

Sikreste, at udføre to Tælninger, og hvis disse stemme overens, føres en lignende Draabe, som den, der blev brugt til Tælningen, over i en Kolbe, der indeholder en i Forvejen afvejet bestemt Mængde steriliseret Vand. Infektionsvædsken er paa denne Maade færdig, og man ved nu, at den idetmindste meget nær indeholder det Antal Celler, som Beregningen angiver. Det nøjagtige Tal vilde man faa, ifald selve Dækglasset med den derpaa værende Draabe blev ført over i Vandet. I saa Fald maatte man i Stedet for Pasteurske Kolber benytte en Flaske med tilstrækkelig vid Hals, for at Dækglasset kan slippe ned i Vandet. Ved Hjælp af Kautschukpropper med Gjennemboringer og deri indsatte Glasrør kunde man da indrette Flasken efter samme Princip som den tohalsede Kolbe. Har man sin Infektionsvædske i fuldstændig Orden, saa at der virkelig er det beregnede Antal Celler tilstede i det bestemte Rumfang Vand, f. Ex. som ovenfor angivet, 0,5 Celler i hver Kub.-Cent., og man derpaa ved Hjælp af Maalerøret udsaar 1 Kub.-Cent. i hver af et større Antal Kolber med passende Næringsvædske, saa vil man dog alligevel vistnok aldrig naa Idealet at faa en Infektion i hver anden Kolbe, hverken mer eller mindre. Dette beror væsentlig derpaa, at man ikke kan faa Infektionsvædskens Celler saa fuldstændig jævnt fordelte, som dette vilde kræve. Ogsaa kan det naturligvis hændes, at nogle af Cellerne ikke have tilstrækkelig Livskraft til at grundlægge nye Vegetationer. Ved Tælningen vil man ligeledes undertiden være i Tvivl, om en Celle er levende eller ej, og om man skal tælle hver enkelt Celle i en Koloni, eller om man skal regne den hele Koloni for een Celle; det Sidste vil naturligvis være det Rigtigste, hvis alle Cellerne vedblive at være forbundne, indtil de ere blevne overførte i en af Kolberne med Næringsvædsken, men skilles de ad forinden, hvorved de altsaa blive istand til hver for sig at grundlægge en Vegetation, saa har man begaaet en Fejl derved. Erfaringen viser, som sagt, at vi, hvormeget vi end anstrænge os, ikke kunne faa disse Forsøg til at gaa saa mathematisk nøjagtigt, som vi kunde ønske, men dog har jeg, som ovenfor anført, opnaaet gode Resultater derigjennem. Dette beroede væsentlig derpaa, at jeg i mine inficerede Kolber tidlig fik Øje for et Skjelnemærke, hvorved jeg kunde adskille dem, der hver kun havde modtaget een Gjærcelle eller een sammenhængende Koloni (hvilket her vil sige det Samme) fra dem, der hver havde modtaget flere. Paa Grund af Iagttagelsens Betydning for Analysen paa dette Omraade, meddelte jeg allerede for halvandet Aar siden en Oplysning derom i nærværende Tidsskrift.

Fra det Øjeblik, da der træder en makroskopisk kjendelig Udvikling frem i de inficerede Kolber, iagttager man temmelig let, at der i nogle findes flere, i andre derimod kun een Gjærplet i hver. De træde paa dette Stadium tydeligt frem i den endnu klare Næringsvædske (i de tænkte Tilfælde Ølurt). Ved gjennemfaldende Lys vise de sig som mørke, ved paafaldende Lys derimod som hvide Pletter, aldrig frit svævende i Vædsken, men bestandig knyttede til Væggen. Naar Kolberne staa ved almindelig Stuevarme uden at blive rystede, kan man i Løbet af flere Dage iagttage disse Pletter og kontrolere, om deres Antal forøges eller ej. Det er ganske hensigtsmæssigt at have saadanne Kolber staaende i Termostaten (f. Ex. ved 16—18° C.); thi man er da sikker paa at undgaa den Bevægelse i Vædsken, som stærke Temperatursvingninger kunne fremkalde. Pletterne blive efterhaanden større og større, Vædsken mættes lidt efter lidt med Kulsyre, smaa Øer af Skum begynde at komme frem paa Overfladen, Gjæringen tager rigtig fat, og ved den Uro og Uklarhed, som herved efterhaanden opstaar i Vædsken, standses vor makroskopiske Undersøgelse. Vi tage nu de Kolber ud, som hele Tiden under Iagttagelserne hver have fremvist kun een Gjærplet; det er nemlig vore Renkulturer, hver stammende fra een eneste Celle eller, hvad der i det givne Tilfælde betyder det Samme, fra een Koloni af indbyrdes forbundne Celler. Beviset for Slutningens Rigtighed er et indirekte. Antage vi nemlig, at der i en af vore Kolber med Urt indføres to eller flere livskraftige og indbyrdes adskilte Gjærceller, saa ville disse, idet Kolberne, som Forsøget kræver det, stærkt rystes, for at den indførte Infektionsvædske kan blive godt blandet med Næringsvædsken, ogsaa her som Regel blive skilte ad, og forsaavidt de komme til at formere sig, hver danne sit særskilte Vegetationscentrum. Naar Vædsken er kommen til Ro, bundfældes de nemlig, og det kan næppe tænkes, at de skulde komme til at lejre sig paa det selvsamme Punkt. Har Vegetationen i en Kolbe med een Gjærplet fæstnet sig paa Kolbens skraanende Væg og ikke dybest nede, da er dette et nyt Tegn paa, at der oprindelig kun blev udsaaet een Celle, og Kolber af den Art høre netop til de ret hyppige Tilfælde. Medens Reglen altsaa bliver denne, at eet Vegetationscentrum i en Kolbe betyder en Udsæd af een levende Celle, saa kan man ikke omvendt sige, at flere Vegetationscentra i Almindelighed skyldes Udsæd af flere Celler. Ogsaa en Kolbe, som kun har modtaget een Celle, vil ikke sjelden hurtig erholde flere Centra. Opstaar der nemlig endog blot en temmelig ringe Bevægelse i

Vædsken, efterat vedkommende Celle ved Knopskydning har dannet en Koloni, ville de nydannede Celler saaledes let kunne skilles ad og paa den Maade grundlægge hver sit Vegetationscentrum. Heraf følger, at der som Regel har været flere Renkulturer tilstede i vore Forsøg, end vi bemærkede.

Lader os endvidere tænke os det Tilfælde, at der i en Kolbe er bleven udsaat een livskraftig Celle, som i normal Tid grundlagde en Koloni, og desuden en eller flere svage Celler, der først sent kom til at formere sig, længe efter at Gjæringen havde standset vore makroskopiske Iagttagelser. Hvis Saadant kan indtræffe, vil der altsaa her være en Fejlkilde. Det er imidlertid, vel overvejet, ikke rimeligt, at det vil kunne ske; thi have de svage Celler ikke kunnet komme til Kræfter i Forsøgets Begyndelse, medens der endnu var forholdsvis gunstige Livsforhold tilstede, kan det næppe antages, at de senere skulde blive istand dertil, naar den stærke Konkurrent har bredet sig og optaget en stor Del af Ilten og Næringsstofferne i Vædsken og til Gjengjæld fyldt den med sine Gjæringsprodukter. For at sikre os imod en mulig Skuffelse ville vi dog antage, at der iblandt vore Kolber, som hver have 1 Gjærplet, undtagelsesvis kan forekomme en og anden, som ikke er bleven inficeret med een, men med flere Celler. Spørgsmaalet bliver da, hvad vi her skulle gjøre for dog en Gang at komme til Ro i denne vanskelige Sag og naa det faste Udgangspunkt, der var Maalet for vore Bestræbelser. Svaret er: Der maa for hvert Forsøg fordres et større Antal af Kolber, hver med een Gjærplet, og forsaavidt vi skulle erkjende disse for Renkulturer af een og samme Art, maa de alle ved de Prøver, vi foretage med dem, stemme nøjagtig overens; og gjentages det ovenfor beskrevne Forsøg, maa vi atter anden Gang erholde Renkulturer af selv samme Art som første Gang. Som det ses, bevæge Experimenterne sig her i en Ring: Renkulturerne skulle sætte os istand til at undersøge, om der findes konstante Arts-Karakterer eller ej, og, hvis disse foreligge, da gjøre det muligt for os at udfinde, hvori de bestaa; og Karaktererne benyttes saa omvendt atter til at prøve, om det, der kaldes en Renkultur, virkelig er det. Som berørt i det Foregaaende, har jeg været saa heldig at opdage saadanne Karakterer; hvilke disse ere udvikles nærmere dels i det følgende Afsnit dels senere i andre Afhandlinger.

Naar der i mine Undersøgelser over Slægten Saccharomyces benyttes Udtrykket »Art«, saa forstaas derved en Vegetation, som jeg i Aar og Dag paa forskjellig Maade har dyrket, og som, saa-

længe jeg har kunnet iagttage den, bestandig har bevaret visse, bestemte Kjendetegn, hvorved den tydeligt kunde skjelnes fra andre nærstaaende. Spørgsmaalet om, hvad der maa opfattes som Species, Varietet, Race eller Afændring, kan jeg dog ikke i nærværende Afhandling indlade mig paa; det vil først blive behandlet senere, naar jeg har naaet en Afslutning paa Undersøgelserne.

Kort efter, at jeg havde begyndt at anvende den ovenfor beskrevne Methode, blev den underkastet en let tilgængelig Prøve. Hertil benyttede jeg den ved sin udprægede Form og sin fysiologiske Ejendommelighed karakteristiske Sacch. apiculatus. Celler af denne Art bleve i Infektionsvandet blandede med Celler af almindelig Bryggerigjær, hvorpaa en Række Kolber med steriliseret Urt paa den ovenfor beskrevne Maade bleve inficerede. Resultatet blev da, at nogle af de Kolber, i hver af hvilke der havde udviklet sig een Gjærplet, indeholdt kun ovale Celler lig Bryggerigjærens og de øvrige kun citronformede, tilhørende Sacch. apiculatus. Dette var allerede et smukt Bevis for Methodens Brugbarhed.

Forinden Forsøgene anstilledes, blev vedkommende Værelse gjort godt rent, og der blev saa vidt muligt sørget for, at der paa selve Arbejdsdagen fandtes en rolig, støvfri Luft derinde, og kort sagt gjort alt muligt for at undgaa Infektion udenfra. Hvis en saadan i højere Grad var indtraadt, vilde jo et større Antal af de benyttede Kolber være blevne ødelagte og Arbejdet i væsentlig Grad forstyrret. Saadanne Forberedelser tage unægtelig en Del Tid, men jeg er kommen til den Erfaring, at de i Længden betale sig; thi Experimenterne faa herved en Sikkerhed, som de ellers ofte vilde mangle. I henved 300 Kolber med Urt, som til forskjellig Tid i Løbet af et Par Maaneder bleve anvendte, iagttoges uagtet nøje Eftersyn fremmede Organismer kun i 2; disse vare nemlig blevne angrebne af Penicillium glaucum. Dette viser, at Øjemedet næsten fuldstændig blev opnaaet.

I Robert Koch's Afhandling om Methoder til Undersøgelse af Mikroorganismer[1]) fremhæves stærkt den Betydning, som et fast Næringssubstrat har for Dyrkningen af disse. Han anvendte hertil dels Kartoffelskiver og dels en Blanding af Gelatine med en eller

[1]) Robert Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. (Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. I B. 1881. p. 18.)

anden Næringsvædske, bestandig steriliseret ved Opvarmning. Naar Kartoffelskiverne eller den stivnede Næringsgelatine en Tidlang udsættes for Luftens direkte Paavirkning, vil der paa disse Substrater regelmæssig blive aflejret en større eller mindre Mængde forskjellige Kim. Bringes nu det Hele ind i et fugtigt Rum, saa vil man efter nogle faa Dages Forløb saavel paa Kartoffelskivernes som paa Gelatinens Overflade finde en Del smaa Vegetationspletter, hvis Farve og øvrige Udseende kan være meget forskjellig. Ved den mikroskopiske Undersøgelse faar man det Indtryk, at idetmindste de fleste af disse Vegetationscentra indeholde hver een Art. I mange Tilfælde er der rimeligvis ogsaa blevet aflejret enkelte Kim hver for sig hist og her paa den udsatte Næringsbund, og disse ville da danne hver sin Renkultur. Paa denne Maade vil man altsaa ogsaa have nogen Udsigt til at erholde Renkulturer af Saccharomyces-Arterne, naar man navnlig i Frugttiden udsætter de omtalte Kartoffelskiver eller passende Næringsgelatine for Luftens Paavirkning i Frugthaverne. Af Koch's Meddelelser lære vi ligeledes, at man ved at blande Vand, hvori der findes levende Mikroorganismer, sammen med Næringsgelatine, som endnu er flydende, da i denne, naar den er stivnet, vil erholde flere særskilte Vegetationscentra, hvoraf idetmindste nogle maa antages at stamme fra en eneste Kim. Hælder man den saaledes inficerede og endnu flydende Gelatine ud i mere eller mindre tynde Lag, kunne disse Vegetationer under deres Væxt gjennembryde Massen og komme op paa Overfladen, hvorved de da blive mere tilgængelige for Undersøgelsen. Det forudsættes bestandig, at Dyrkningsforsøgene foretages i et fugtigt Rum og ved en ikke for lav Temperatur. Infektion fra Luften frembyder her ikke den Fare, som naar man experimenterer med Vædsker; thi kommer der i Gelatine-Kulturen Kim udenfra, saa ville disse, hvis deres Antal ikke er overordentligt stort, kun undtagelsesvis falde sammen med de udsaaede Kim eller med de deraf udviklede Vegetationer; i Regelen ville de derimod grundlægge særskilte Vegetationer. Da Næringssubstratet er fast, kan der ejheller som i en Vædske finde en Sammenflyden og Sammenblanding Sted. Sikrest er det naturligvis alligevel at anvende saa megen Forsigtighed som mulig. Brefeld og andre Forskere have vel tidligere end Koch anvendt en lignende Fremgangsmaade som den ovenfor beskrevne, men det er Koch's Fortjeneste at have uddannet den videre og at have givet den en meget udstrakt Anvendelse.

Under et Besøg i Koch's Laboratorium i Efteraaret 1882 havde jeg Lejlighed til at se, at der ved Hjælp af den ovenfor

kortelig beskrevne Methode kunde erholdes gode Resultater med Hensyn til Studiet af Bakterier. Da jeg kom hjem, anstillede jeg derfor en Prøve med Saccharomyces-Arterne. For at faa at vide, om man paa den Maade virkelig kunde erholde Renkulturer af disse, sammenblandede jeg to Gjærarter, der med Sikkerhed ved en mikroskopisk Undersøgelse kunde skjelnes fra hinanden, nemlig Sacch. apiculatus og Sacch. cerevisiæ, og anbragde derpaa denne Blanding i vedkommende Gelatine. Næringsvædsken i denne bestod af Ølurt, og den blev holdt flydende i et Vandbad, hvis Temperatur var 30—35° C. Ved Rystning bleve Cellerne, saavidt muligt, jævnt fordelte i Næringsgelatinen; da dette var sket, blev denne hældt ud paa en i Forvejen flammerenset Glasplade, som derpaa anbragdes under en fugtig Glasklokke. Efter et Par Dages Forløb saas tydeligt nogle smaa graaladne Pletter; Dyrkningen blev imidlertid fortsat indtil den 8de Dag, paa hvilken en Skimmeltue havde udviklet sig i temmelig høj Grad. Da Pladen blev undersøgt, viste det sig, at Penicillium glaucum var den eneste fremmede Organisme, der havde sneget sig ind i Kulturen. Ved nøje at betragte de omtalte Pletter opdagede man, at nogle vare lidt slimede, lidt mørkere og i Reglen mindre end de øvrige; foruden ved de anførte Kjendetegn adskilte de sidste sig tillige derved fra de førstnævnte, at de havde et tørt Udseende. Forskjellen var dog ikke meget fremtrædende. Pladen indeholdt 70 Pletter, og heraf tilhørte omtrent Halvdelen hver Art. I de slimede Pletter fandtes kun Sacch. apiculatus; de tørre, med Undtagelse af en, indeholdt udelukkende Sacch. cerevisiæ; i den ene (altsaa c. $1^1/_2$ % af det hele Antal Pletter), hvori begge Gjærarter fandtes, dannede Sacch. cerevisiæ Vegetationens øverste Lag, medens Sacch. apiculatus optraadte som en underordnet Indblanding i de underste. Dette forklares naturligt derved, at den er den svageste af de to. Naar man ved Mikroskopets Hjælp vil danne sig en Mening om, hvorvidt en saadan Vegetationsplet er ren eller ej, bør man overhovedet aldrig lade sig nøje med at undersøge de øverste Lag, thi her vil man, hvis Flere have dannet Pletten, som Regel kun finde den stærkere Konkurrent, da alle de svage regelmæssig ville være tilstede i de underste Partier. Ved at gjentage min Prøve ved Hjælp af Sacch. apiculatus og en af de Arter, der kunne bestemmes som Sacch. Pastorianus, erholdt jeg i Hovedsagen samme Resultat som i det første Forsøg. Saavidt jeg ved, har hverken Koch eller nogen Anden underkastet Methoden en Kontrol som den ovenfor beskrevne, og det er dog egentlig først derigjennem, at man kan erholde Klarhed over Methodens Grændser og Sikker-

hed i at anvende den. Heraf læres altsaa, at Gjærcellerne i de allerfleste Tilfælde ere blevne adskilte og udsaaede hver for sig, og at de dannede Vegetationspletter næsten bestandig indeholde Renkulturer. Spørgsmaalet er nu, hvorledes man kan undgaa de urene Vegetationer, der som truende Undtagelser jo virkelig indfinde sig. Den mikroskopiske Undersøgelse kan kun hjælpe i de Tilfælde, hvor der er Tale om saadanne karakteristiske Former som dem, hvormed den beskrevne Prøve blev anstillet; men overfor den store Gruppe af Arter med ovale og pølsedannede Celler er der derimod Intet at udrette ad den Vej. Det gjælder om disse ligesom om de tidligere beskrevne Forsøg paa at fremstille Renkulturer, at Faren for Fejltagelser i samme Grad indskrænkes, som den ønskede Art er i Overvægt i den Gjærmængde, man anvender. Det Samme naas naturligvis ogsaa ved at gjentage Forsøget saaledes, at det første bliver Udgangspunkt for det andet, og dette for det tredie o. s. v. Den fuldt betryggende Sikkerhed faar man dog ikke ad den Vej; man opererer her bestandig med Heldet og har ingen Kontrol, hvorved man kan afgjøre, om man har naaet Maalet eller ej.

Betingelserne for ved Hjælp af Gelatinen at kunne opnaa Renkulturer ere, at Udsædens Celler blive tilstrækkelig adskilte fra hverandre, saa at de ved Knopskydningen udviklede Kolonier ikke kunne komme til at smelte sammen. Cellernes Antal maa derfor i Forhold til Næringsgelatinens Masse være temmelig ringe. Indeholder denne altsaa forholdsvis faa Celler, og ere disse ved Rystning virkelig blevne jævnt fordelte i den Hinde, der er gydt ud over Glaspladen, da ville ogsaa de dannede Vegetationspletter hver stamme fra een Celle. Den ene Plade med sin Hinde bringer imidlertid ikke megen Oplysning om, hvorvidt Maalet er naaet eller ej; det er nemlig kun Fordelingen af Pletterne, der her giver os et lille, og et kun utydeligt Vink. Tage vi derimod endnu en Plade og anbringe herpaa en Hinde af samme Blanding som den første og af samme Størrelse og Tykkelse, saa erholde vi en Kontrol, og i samme Grad, som vi have naaet at fyldestgjøre de stillede Betingelser, vil Kontrollen ogsaa blive skarpere. Udvikles der paa hver af Pladerne det samme Antal Vegetationspletter, saa er dette et Tegn paa, at Udsædens Celler have været jævnt fordelte, og at Forsøget er tilfredsstillende udført. Bærer hver Plade derimod ikke det samme Antal Pletter, viser dette, at Cellerne ikke have været jævnt fordelte; men heraf følger dog ikke, at Forsøget er mislykket, det kan endog være gaaet ligesaa godt igjennem som i det første Tilfælde. Sagen er den, at der slet

ikke fordres, at Cellerne skulle være jævnt fordelte, men kun at de blive saaledes adskilte fra hverandre, at enhver for sig kan faa Plads til at danne sin Vegetationsplet uden at være udsat for at støde sammen med andre. Denne Kontrolprøve giver følgelig kun Svar til den ene Side.

Den eneste Vej, ad hvilken vi kunne erholde fuldstændig Sikkerhed for, om en Vegetationsplet er dannet af een eller flere Celler, er den at foretage Dyrkningen i et fugtigt Kammer. Jeg har udført Forsøget paa følgende Maade: Nogle faa Gjærceller bleve som sædvanlig godt fordelte i den flydende Næringsgelatine, og derpaa blev der af denne Blanding udbredt en temmelig tynd Hinde paa et Dækglas, som fæstnedes saaledes til et af de p. 53 omtalte Kamre, at Gelatinehinden kom til at vende nedad. Dækglasset, Kammeret og kort sagt alle de Apparater, der benyttedes, vare i Forvejen flammerensede. Saasnart Gelatinen var stivnet, opsøgte jeg et Par Celler, som havde et kraftigt Udseende, og hvis Beliggenhed i Præparatet var gunstig for Udviklingen af særskilte Kolonier; jeg mærkede mig deres Stilling og anbragde derpaa Kammeret i Thermostaten ved c. 25° C. Efter nogle faa Timers Forløb var Knopskydningen i Gang. Idet jeg med korte Mellemrum underkastede Præparatet en mikroskopisk Undersøgelse, kunde jeg Skridt for Skridt følge Udviklingen og saaledes erholde sikker Oplysning, om hvorvidt de Kolonier, som nu efterhaanden udvikledes, hver stammede fra een eller fra flere Celler. Efter 24 Timers Forløb kunde Vegetationspletterne skimtes med blotte Øjne; de havde en rund Form og vare lysgraaladne; efter 36 Timers Forløb vare de saa store som smaa Knappenaalshoveder. Paa disse senere Stadier er Undersøgelsen meget let, den bestaar nemlig kun deri, at der efterses, om der i Koloniernes Nærhed udvikles andre, som kunne smelte sammen med de først iagttagne. Da vor Næringsgelatine danner en fast Bund, hvori de udsaaede Celler indstøbes, skader det ikke, om der i Præparatet findes flere af disse, naar nogle af dem blot ligge saa isolerede, at de have tilstrækkelig Plads til at danne hver sin Koloni, uden at en Sammensmeltning med andre kan indtræde. Benyttede man en Vædske til Kulturerne, vilde en Sammenflyden derimod finde Sted; man vilde da kun kunne naa Maalet ved at udsaa een eneste Celle, og Opgaven vilde følgelig blive meget vanskeligere. Naar Koch's Methode anvendes med den her beskrevne Tillæmpning, har man deri et fuldstændigt sikkert Middel til at erholde en Renkultur.

Efterat disse, fra deres første Anlæg iagttagne Vegetationspletter vare traadte tydeligt frem for Øjet, blev der fra hver ved Hjælp af en i Forvejen glødet Platintraad hurtigt overført nogle Celler i Kolber med steriliseret Urt. Hvis Pletterne, som benyttes til Infektionen, kun tilhøre een Art, ville de deraf dannede Vegetationer i Kolberne stemme overens; tilhøre de derimod flere, vil der naturligvis ogsaa blive Forskjel paa Kolbernes Indhold.

I Forsøgene med den omtalte Tillæmpning indtræder først Usikkerheden paa det Punkt, da Dækglasset løftes op fra Kammeret, og Overførelsen i Kolberne foregaar; en Infektion fra Luften bliver da mulig. Faren er imidlertid kun ringe, naar Forsøgene udføres hurtigt og i et renligt Værelse med rolig Luft. Dette viste de i de først beskrevne Forsøg benyttede Hinder af Næringsgelatine; disse havde hver et Fladeindhold af c. 160 Kvadrat-Centim., og modtoge dog ingen anden Infektion fra Luften end Skimmel, nemlig hver Hinde i Gjennemsnit 1 spiredygtig Spore. Pag. 57 blev det ligeledes berørt, hvor ringe Faren for Infektion fra Luften er, naar man indretter sig paa en fornuftig Maade. Man kan forøvrigt ogsaa her anstille en Prøve, nemlig ved i den Tid, Experimentet udføres, at lade Skaale med steriliseret Ølurt henstaa til at opfange, hvad Luftens Støv maatte føre med sig. Paa denne Maade vil man navnlig kunne erholde Besked, om der var Saccharomyces-Arter tilstede eller ej. Bakterier og Skimmelsvampe ængste os ikke saa meget; thi dem ville vi med meget større Lethed kunne opdage, hvis de maatte have sneget sig ind i vore Kulturer.

Pag. 59 blev det omtalt, at der var en lille Forskjel imellem de paa samme Gelatinehinde dannede Vegetationspletter af Sacch. apiculatus og af Sacch. cerevisiæ. Jeg gjentog disse Forsøg for at erfare, om de af forskjellige Gjærarter under de nævnte Forhold udviklede Vegetationspletter frembøde konstante makroskopiske Skjelnemærker. Hvis dette var Tilfældet, vilde man nemlig heri have en udmærket Hjælp til Analysen. Det viste sig imidlertid, at der for de undersøgte Arters Vedkommende ingen kjendelig Forskjel traadte frem; i Reglen var det mig endog ikke muligt at skjelne en Plet, som tilhørte Sacch. apiculatus fra en anden, der var dannet af Sacch. cerevisiæ eller af Sacch. Pastorianus. Flere af Arterne stemmede ogsaa mikroskopisk nøje overens under de givne Forhold; det var derfor ejheller ad den Vej muligt at foretage nogen endog kun tilnærmelsesvis sikker Bestemmelse. Herfra undtages dog, som ovenfor anført, Sacch. apiculatus, der bestandig bevarede sin karakteristiske Citronform og herved med Lethed skjælnedes fra alle andre.

I mine Undersøgelser over Alkoholgjærsvampene har jeg efterhaanden inddraget et temmelig stort Antal Arter. Materialet hertil erholdt jeg for største Delen i Laboratoriets Nærhed, i de tilgrændsende Haver og i kjøbenhavnske Bryggerier og Brænderier, men jeg fik ogsaa talrige Prøver sendt fra Udlandet, og endnu flere hjembragde jeg selv fra en Rejse i Vogeserne, hvor jeg i Vinhøstens Tid opholdt mig for at studere Vingjæringen. Som en god og meget bekvem Fremgangsmaade til paa Rejser at opbevare Prøver af Gjær kan jeg anbefale følgende: Vedkommende Gjær hældes ud paa et lille Stykke Filtrerpapir, som derpaa lægges sammen som to Blade i en Bog saaledes, at Gjæren kommer til at ligge imellem disse i et meget tyndt Lag. Ved Hjælp af et nyt Stykke Filtrerpapir opsuges saa meget af Vædsken som muligt, og derefter lægges Præparatet ind i et Par Omslag, der ligeledes ere lavede af Filtrerpapir. Dette maa i alle Tilfælde være flammerenset, førend det bruges. Naar Præparatet paa denne Maade er godt indpakket, lader man det helst ligge en Ugestid ved almindelig Stuevarme og udsat for Luftens Paavirkning. Derefter tages det yderste Omslag bort for at fjerne det Støv, som Luften i Værelset efterhaanden har aflejret paa det, og det nu næsten tørre Gjærpræparat kan i denne Tilstand gjemmes i en Skuffe i flere Maaneder, uden at Cellerne miste deres Livskraft. Har man, som det jo let hændes paa Rejser, ikke Lejlighed til at lade Præparatet henligge en Tid i Værelset til Tørring, er der heller ingen Fare for strax at pakke det ned i Kufferten, navnlig naar man i Forvejen ved Presning med Filtrerpapir har fjernet saa megen Fugtighed som mulig. Ved Hjælp af den beskrevne Fremgangsmaade kan man med ringe Bekostning og uden stort Besvær i en almindelig Brevkonvolut sende Gjærprøver lange Vejlængder. En stor Del af det Materiale, jeg har benyttet til mine Studier, har som sagt gjort Rejsen til Laboratoriet paa denne Maade.

Til i længere Tid at opbevare saadanne Prøver har jeg ligeledes med Held anvendt en steriliseret Vædske, der bestod af almindelig Ølurt, hvortil der var sat c. 10 Vol. % Alkohol og lidt Vinstensopløsning. Da Gjærcellerne, naar de anbringes heri, regelmæssig fremkalde en svag Gjæring, maa Flaskerne, hvori Vædsken og Gjæren anbringes, kun være halvt fyldte. En væsentlig Dyd ved denne Vædske er den, at man ikke her bliver forulempet af nogen stærk Gjæring; man kan derfor lukke vedkommende Flaske strax, efterat Gjæren er kommen deri, uden at der er Fare for en Sprængning. Herved adskiller den sig paa en fordelagtig Maade

hed i at anvende den. Heraf læres altsaa, at Gjærcellerne i de allerfleste Tilfælde ere blevne adskilte og udsaaede hver for sig, og at de dannede Vegetationspletter næsten bestandig indeholde Renkulturer. Spørgsmaalet er nu, hvorledes man kan undgaa de urene Vegetationer, der som truende Undtagelser jo virkelig indfinde sig. Den mikroskopiske Undersøgelse kan kun hjælpe i de Tilfælde, hvor der er Tale om saadanne karakteristiske Former som dem, hvormed den beskrevne Prøve blev anstillet; men overfor den store Gruppe af Arter med ovale og pølsedannede Celler er der derimod Intet at udrette ad den Vej. Det gjælder om disse ligesom om de tidligere beskrevne Forsøg paa at fremstille Renkulturer, at Faren for Fejltagelser i samme Grad indskrænkes, som den ønskede Art er i Overvægt i den Gjærmængde, man anvender. Det Samme naas naturligvis ogsaa ved at gjentage Forsøget saaledes, at det første bliver Udgangspunkt for det andet, og dette for det tredie o. s. v. Den fuldt betryggende Sikkerhed faar man dog ikke ad den Vej; man opererer her bestandig med Heldet og har ingen Kontrol, hvorved man kan afgjøre, om man har naaet Maalet eller ej.

Betingelserne for ved Hjælp af Gelatinen at kunne opnaa Renkulturer ere, at Udsædens Celler blive tilstrækkelig adskilte fra hverandre, saa at de ved Knopskydningen udviklede Kolonier ikke kunne komme til at smelte sammen. Cellernes Antal maa derfor i Forhold til Næringsgelatinens Masse være temmelig ringe. Indeholder denne altsaa forholdsvis faa Celler, og ere disse ved Rystning virkelig blevne jævnt fordelte i den Hinde, der er gydt ud over Glaspladen, da ville ogsaa de dannede Vegetationspletter hver stamme fra een Celle. Den ene Plade med sin Hinde bringer imidlertid ikke megen Oplysning om, hvorvidt Maalet er naaet eller ej; det er nemlig kun Fordelingen af Pletterne, der her giver os et lille, og et kun utydeligt Vink. Tage vi derimod endnu en Plade og anbringe herpaa en Hinde af samme Blanding som den første og af samme Størrelse og Tykkelse, saa erholde vi en Kontrol, og i samme Grad, som vi have naaet at fyldestgjøre de stillede Betingelser, vil Kontrollen ogsaa blive skarpere. Udvikles der paa hver af Pladerne det samme Antal Vegetationspletter, saa er dette et Tegn paa, at Udsædens Celler have været jævnt fordelte, og at Forsøget er tilfredsstillende udført. Bærer hver Plade derimod ikke det samme Antal Pletter, viser dette, at Cellerne ikke have været jævnt fordelte; men heraf følger dog ikke, at Forsøget er mislykket, det kan endog være gaaet ligesaa godt igjennem som i det første Tilfælde. Sagen er den, at der slet

ikke fordres, at Cellerne skulle være jævnt fordelte, men kun at de blive saaledes adskilte fra hverandre, at enhver for sig kan faa Plads til at danne sin Vegetationsplet uden at være udsat for at støde sammen med andre. Denne Kontrolprøve giver følgelig kun Svar til den ene Side.

Den eneste Vej, ad hvilken vi kunne erholde fuldstændig Sikkerhed for, om en Vegetationsplet er dannet af een eller flere Celler, er den at foretage Dyrkningen i et fugtigt Kammer. Jeg har udført Forsøget paa følgende Maade: Nogle faa Gjærceller bleve som sædvanlig godt fordelte i den flydende Næringsgelatine, og derpaa blev der af denne Blanding udbredt en temmelig tynd Hinde paa et Dækglas, som fæstnedes saaledes til et af de p. 53 omtalte Kamre, at Gelatinehinden kom til at vende nedad. Dækglasset, Kammeret og kort sagt alle de Apparater, der benyttedes, vare i Forvejen flammerensede. Saasnart Gelatinen var stivnet, opsøgte jeg et Par Celler, som havde et kraftigt Udseende, og hvis Beliggenhed i Præparatet var gunstig for Udviklingen af særskilte Kolonier; jeg mærkede mig deres Stilling og anbragde derpaa Kammeret i Thermostaten ved c. 25° C. Efter nogle faa Timers Forløb var Knopskydningen i Gang. Idet jeg med korte Mellemrum underkastede Præparatet en mikroskopisk Undersøgelse, kunde jeg Skridt for Skridt følge Udviklingen og saaledes erholde sikker Oplysning, om hvorvidt de Kolonier, som nu efterhaanden udvikledes, hver stammede fra een eller fra flere Celler. Efter 24 Timers Forløb kunde Vegetationspletterne skimtes med blotte Ojne; de havde en rund Form og vare lysgraaladne; efter 36 Timers Forløb vare de saa store som smaa Knappenaalshoveder. Paa disse senere Stadier er Undersøgelsen meget let, den bestaar nemlig kun deri, at der efterses, om der i Koloniernes Nærhed udvikles andre, som kunne smelte sammen med de først iagttagne. Da vor Næringsgelatine danner en fast Bund, hvori de udsaaede Celler indstøbes, skader det ikke, om der i Præparatet findes flere af disse, naar nogle af dem blot ligge saa isolerede, at de have tilstrækkelig Plads til at danne hver sin Koloni, uden at en Sammensmeltning med andre kan indtræde. Benyttede man en Vædske til Kulturerne, vilde en Sammenflyden derimod finde Sted; man vilde da kun kunne naa Maalet ved at udsaa een eneste Celle, og Opgaven vilde følgelig blive meget vanskeligere. Naar Koch's Methode anvendes med den her beskrevne Tillæmpning, har man deri et fuldstændigt sikkert Middel til at erholde en Renkultur.

Efterat disse, fra deres første Anlæg iagttagne Vegetationspletter vare traadte tydeligt frem for Øjet, blev der fra hver ved Hjælp af en i Forvejen glødet Platintraad hurtigt overført nogle Celler i Kolber med steriliseret Urt. Hvis Pletterne, som benyttes til Infektionen, kun tilhøre een Art, ville de deraf dannede Vegetationer i Kolberne stemme overens; tilhøre de derimod flere, vil der naturligvis ogsaa blive Forskjel paa Kolbernes Indhold.

I Forsøgene med den omtalte Tillæmpning indtræder først Usikkerheden paa det Punkt, da Dækglasset løftes op fra Kammeret, og Overførelsen i Kolberne foregaar; en Infektion fra Luften bliver da mulig. Faren er imidlertid kun ringe, naar Forsøgene udføres hurtigt og i et renligt Værelse med rolig Luft. Dette viste de i de først beskrevne Forsøg benyttede Hinder af Næringsgelatine; disse havde hver et Fladeindhold af c. 160 Kvadrat-Centim., og modtoge dog ingen anden Infektion fra Luften end Skimmel, nemlig hver Hinde i Gjennemsnit 1 spiredygtig Spore. Pag. 57 blev det ligeledes berørt, hvor ringe Faren for Infektion fra Luften er, naar man indretter sig paa en fornuftig Maade. Man kan forøvrigt ogsaa her anstille en Prøve, nemlig ved i den Tid, Experimentet udføres, at lade Skaale med steriliseret Ølurt henstaa til at opfange, hvad Luftens Støv maatte føre med sig. Paa denne Maade vil man navnlig kunne erholde Besked, om der var Saccharomyces-Arter tilstede eller ej. Bakterier og Skimmelsvampe ængste os ikke saa meget; thi dem ville vi med meget større Lethed kunne opdage, hvis de maatte have sneget sig ind i vore Kulturer.

Pag. 59 blev det omtalt, at der var en lille Forskjel imellem de paa samme Gelatinehinde dannede Vegetationspletter af Sacch. apiculatus og af Sacch. cerevisiæ. Jeg gjentog disse Forsøg for at erfare, om de af forskjellige Gjærarter under de nævnte Forhold udviklede Vegetationspletter frembøde konstante makroskopiske Skjelnemærker. Hvis dette var Tilfældet, vilde man nemlig heri have en udmærket Hjælp til Analysen. Det viste sig imidlertid, at der for de undersøgte Arters Vedkommende ingen kjendelig Forskjel traadte frem; i Reglen var det mig endog ikke muligt at skjelne en Plet, som tilhørte Sacch. apiculatus fra en anden, der var dannet af Sacch. cerevisiæ eller af Sacch. Pastorianus. Flere af Arterne stemmede ogsaa mikroskopisk nøje overens under de givne Forhold; det var derfor ejheller ad den Vej muligt at foretage nogen endog kun tilnærmelsesvis sikker Bestemmelse. Herfra undtages dog, som ovenfor anført, Sacch. apiculatus, der bestandig bevarede sin karakteristiske Citronform og herved med Lethed skjælnedes fra alle andre.

I mine Undersøgelser over Alkoholgjærsvampene har jeg efterhaanden inddraget et temmelig stort Antal Arter. Materialet hertil erholdt jeg for største Delen i Laboratoriets Nærhed, i de tilgrændsende Haver og i kjøbenhavnske Bryggerier og Brænderier, men jeg fik ogsaa talrige Prøver sendt fra Udlandet, og endnu flere hjembragde jeg selv fra en Rejse i Vogeserne, hvor jeg i Vinhøstens Tid opholdt mig for at studere Vingjæringen. Som en god og meget bekvem Fremgangsmaade til paa Rejser at opbevare Prøver af Gjær kan jeg anbefale følgende: Vedkommende Gjær hældes ud paa et lille Stykke Filtrerpapir, som derpaa lægges sammen som to Blade i en Bog saaledes, at Gjæren kommer til at ligge imellem disse i et meget tyndt Lag. Ved Hjælp af et nyt Stykke Filtrerpapir opsuges saa meget af Vædsken som muligt, og derefter lægges Præparatet ind i et Par Omslag, der ligeledes ere lavede af Filtrerpapir. Dette maa i alle Tilfælde være flammerenset, førend det bruges. Naar Præparatet paa denne Maade er godt indpakket, lader man det helst ligge en Ugestid ved almindelig Stuevarme og udsat for Luftens Paavirkning. Derefter tages det yderste Omslag bort for at fjerne det Støv, som Luften i Værelset efterhaanden har aflejret paa det, og det nu næsten tørre Gjærpræparat kan i denne Tilstand gjemmes i en Skuffe i flere Maaneder, uden at Cellerne miste deres Livskraft. Har man, som det jo let hændes paa Rejser, ikke Lejlighed til at lade Præparatet henligge en Tid i Værelset til Tørring, er der heller ingen Fare for strax at pakke det ned i Kufferten, navnlig naar man i Forvejen ved Presning med Filtrerpapir har fjernet saa megen Fugtighed som mulig. Ved Hjælp af den beskrevne Fremgangsmaade kan man med ringe Bekostning og uden stort Besvær i en almindelig Brevkonvolut sende Gjærprøver lange Vejlængder. En stor Del af det Materiale, jeg har benyttet til mine Studier, har som sagt gjort Rejsen til Laboratoriet paa denne Maade.

Til i længere Tid at opbevare saadanne Prøver har jeg ligeledes med Held anvendt en steriliseret Vædske, der bestod af almindelig Ølurt, hvortil der var sat c. 10 Vol. % Alkohol og lidt Vinstensopløsning. Da Gjærcellerne, naar de anbringes heri, regelmæssig fremkalde en svag Gjæring, maa Flaskerne, hvori Vædsken og Gjæren anbringes, kun være halvt fyldte. En væsentlig Dyd ved denne Vædske er den, at man ikke her bliver forulempet af nogen stærk Gjæring; man kan derfor lukke vedkommende Flaske strax, efterat Gjæren er kommen deri, uden at der er Fare for en Sprængning. Herved adskiller den sig paa en fordelagtig Maade

fra Saccharose-Opløsninger, der forøvrigt ogsaa egne sig godt til at opbevare Gjær i længere Tid.

I mine foran beskrevne Filtrerpapirspræparater bevarede Gjærcellerne i flere Tilfælde deres Livskraft i 20 Maaneder, og det er muligt, at nogle Arter kunne leve endnu længere under disse Forhold. Unge, kraftige Celler holde regelmæssig længere ud end gamle, svage af samme Art. I ingen af mine Prøver vare Cellerne døde før Udløbet af de første 5 Maaneder. Naar vedkommende tørrede Gjærprøve indeholdt flere Arter, men saaledes at en enkelt var i Overvægt, vedblev denne i Reglen ogsaa at være det i den Avl, der dannedes, hvis Præparatet i Løbet af de første 2—3 Maaneder var blevet overført i en Næringsvædske. Henlaa det derimod i længere Tid, hændte det ikke sjældent, at de nydannede Celler enten udelukkende eller for største Delen kom til at bestaa af en hel anden Art, end man havde ventet, og altsaa af en Art, der ved Forsøgets Begyndelse udgjorde en underordnet Bestanddel af den tørrede Gjær. Det vil sige, de forskjellige Arter ere under Udtørringen ikke lige levedygtige, nogle svækkes i højere Grad end andre, og der er ogsaa Forskjel paa det Maal af Tid, i hvilket de kunne bevare deres Liv, naar de paa den beskrevne Maade blive indtørrede. Herved opstaar der atter et kompliceret, men interessant Spil af Muligheder, naar saadanne indtørrede og mere eller mindre svækkede Gjærceller, tilhørende forskjellige Arter, komme sammen i en Næringsvædske og begynde Konkurrencen. Ved at benytte sig af de her skildrede Forhold vil man ofte blive istand til at begunstige en bestemt Art, saa at man kan erholde en Gjærmasse, hvoraf denne udgjør Hovedbestanddelen. Man kan følgelig ad denne Vej komme Renkulturen et Skridt nærmere. Ønsker man at afgjøre, om Cellerne ere levende eller ej, da er det ikke nok at anbringe dem i en gunstig og tilstrækkelig luftet Næringsvædske, men man maa tillige sørge for en heldig Temperatur. Ofte har jeg erfaret, at Gjærceller, som ikke kunde komme til Udvikling ved almindelig Stuevarme, selv om de forøvrigt havde gunstige Ernæringsvilkaar, derimod efter nogle Dages Forløb formerede sig ved en livlig Knopskydning, naar de i Thermostaten bleve udsatte for en Temperatur af c. 27° C.

Jeg fremhæver dette, da de Forskere, der have beskjæftiget sig med Spørgsmaal af lignende Art, ikke have lagt tilstrækkelig Vægt herpaa. Ved en anden Lejlighed vil jeg selv atter komme tilbage til disse Forhold.

I den foran omtalte alkoholrige og sure Næringsvædske holdt Gjærcellerne sig lige saa godt som i Filtrerpapirs-Præparaterne;

i flere Tilfælde bevarede de deres Livskraft over 20 Maaneder. At Arterne ogsaa under disse Opbevaringsforhold forholde sig indbyrdes forskjellige er rimeligt; jeg har dog ikke anstillet særlige Forsøg i den Retning. Nogle af de Gjærprøver, som jeg førte hjem med mig fra Vogeserne, opbevarede jeg saavel i den netop omhandlede Vædske som ogsaa i den gjærende Vin, hvorfra de stammede. Det viste sig da, at de ikke holdt sig saa længe levende i Vinen som i den anden Vædske. Aarsagen hertil maa søges i de to Vædskers forskjelligartede Sammensætning. I Vinen har rimeligvis Næringen været opbrugt af de der i Forvejen dannede Gjærceller, og der har vel næppe fundet nogen Formering Sted. Den anden Vædske indeholdt derimod ved Siden af den store Alkohol- og Syremængde megen Næring i Urten; ved Knopskydning udvikledes derfor ret talrige unge Celler, og det er vistnok disse, der i den lange Tid (17 Maaneder) have holdt sig levende. I ingen af Vædskerne optraadte der Bakterier, Skimmelsvampe eller Sacch. Mycoderma.

De i det følgende Afsnit beskrevne Dyrkningsforsøg for at bringe Gjærceller til at udvikle Askosporer ere, naar intet Andet bemærkes, udførte ved Hjælp af de pag. 32 omtalte Gibsblokke og med unge, kraftige Celler. Udsæden hertil blev forberedt paa følgende Maade: Efterat vedkommende Celler i nogen Tid vare blevne dyrkede i Ølurt (c. 14 % Ball.) ved almindelig Stuevarme, bleve unge, kraftige Celler herfra overførte i ny Urt, men af samme Beskaffenhed som den tidligere, og saaledes dyrkede i henved 1 Døgn ved 26—27° C. De paa denne Maade avlede Gjærceller bleve udsaaede paa Blokkene, og naar disse havde suget sig fulde af Vand, saa at deres Overflader viste sig svagt glindsende, bleve de stillede ind i Thermostaten ved de ønskede Temperaturer. Min Opgave gik ud paa at komme til Klarhed over den Indflydelse, som de forskjellige Varmegrader maatte udøve paa Dannelsen af Askosporerne, og dernæst at afgjøre, om Arterne forholdt sig ens i den nævnte Retning eller ej, og hvis de viste Differenser, da at bestemme disse. Jeg maatte saaledes for hver enkelt af mine foran omtalte Renkulturer undersøge, ved hvilke Varmegrader den nævnte Udvikling ikke længere kunde indtræde, altsaa udfinde Grændsetemperaturerne, og dernæst bestemme, hvor Optimumstemperaturen fandtes, og endelig, for at faa Kurven fuldstændig, foretage Undersøgelser ved et tilstrækkeligt Antal af de imellem Grændserne liggende Temperaturgrader. For at erholde

en saa sikker Maalestok som muligt, valgte jeg til mine Bestemmelser det Tidspunkt, hvor det under de givne Dyrkningsforhold for første Gang er muligt at finde utvivlsomme Anlæg. Hvad jeg herved forstaar, har jeg afbildet paa Kobbertavlen, Fig. 1 og 6 c. For en flygtig Betragtning kunde det synes at have været rimeligere, at der som Maalestok var valgt det Tidspunkt, da den modne Spore var udviklet; det er imidlertid næppe muligt med Bestemthed at afgjøre, naar dette indtræder, eller overhovedet at se, om en foreliggende Spore er moden eller ej. Det førstomtalte Forhold frembyder derimod ikke saadanne Vanskeligheder.

Askosporer udvikles, ligeledes, naar vedkommende Gjærceller anbringes paa Overfladen af steriliseret, stivnet Gelatine, som, saalænge Forsøget varer, holdes i et fugtigt Rum. Det er bekvemt at benytte Objektglas hertil; paa disse stryges den flydende Gelatine i et ikke for tyndt Lag; om der er Næringsvædske indblandet deri eller ej synes ikke at have nogen Betydning, i begge Tilfælde opnaaede jeg en rigelig Avl af Askosporer. Af saadanne Objektglas kan man i et Stativ anbringe en temmelig Mængde under samme Klokke. Det er en forholdsvis hurtig og bekvem Maade til paa een Gang at foretage en større Række Forsøg.

Forinden jeg slutter disse Meddelelser, kan jeg endelig bemærke, at jeg ved i en Tid at dyrke nogle Arter i Gjærvand, der af og til blev luftet, da ogsaa her erholdt Avl af Askosporer.

Experimenter.

De sex Former, hvormed de i det Følgende omhandlede Experimenter ere udførte, kunne henføres til de tre gamle Arter, Sacch. cerevisiæ, Sacch. Pastorianus og Sacch. ellipsoideus. Indtil videre betegnes de saaledes:

Sacch. cerevisiæ I.

Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III.

Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II.

Renkulturerne af dem bleve fremstillede ved Hjælp af de i det forrige Afsnit meddelte Methoder.

Efter det gamle Skema vilde de nævnte Gjærformer blive opstillede som tre eller maaske fire selvstændige Arter, og det vilde da være temmelig ligegyldigt til hvilke, man knyttede Reess's Navne. Af enhver af de ovennævnte Arter (med dette

Navn vil jeg for Kortheds Skyld, men uden at foregribe Undersøgelsernes endelige Resultater, herefter kalde dem) kan der nemlig ved passende Behandling udvikles Former, der kunne henføres til alle de i Reess's System opførte askosporedannende Species. De af Pasteur angivne Karakterer have ikke større Værdi.

Mine foranstaaende Grupperinger betyde kun, at de med det samme Arts-Navn betegnede Gjærsvampe kunne henføres til den nævnte Art hos Reess, men der siges hermed ingenlunde, at de til den samme Gruppe henførte Arter have samme Udspring og stamme fra samme Rod. Jeg henviser her atter til Bemærkningerne pag. 56 om Species, Varietet og Afændring.

I mine senere Afhandlinger vil der efterhaanden blive behandlet et større Antal Arter, og naar de nødvendige Undersøgelser ere blevne afsluttede, vil jeg tydeligt angive de fundne Grændser for de tilstedeværende Species og give disse deres systematiske Navne.

Nedenfor gjennemgaas de sex Arter i den Orden, hvori de bleve nævnte; de tilsvarende Figurer paa Tavlerne ere ligeledes fremstillede i samme Orden.

Sacch. cerevisiæ I.

Denne Art udgjorde Hovedbestanddelen af en Øl-Overgjær, som jeg for nogle Aar siden modtog fra et Bryggeri i Edinburgh. Senere har jeg ogsaa erholdt den fra et Bryggeri i London. Det er en kraftig Overgjærform. Paa medfølgende Kobbertavle, Fig. 1, er der fremstillet Exempler paa Celler med Askosporer. Disse ere som hos alle Saccharomyces-Arterne saavel ved paafaldende som ved gjennemfaldende Lys vandgraa og mere eller mindre kuglerunde; deres Størrelse varierer fra $2^1/_2$—6 Mikromillim.; Yderpunkterne ere dog sjeldne. I Almindelighed findes der 1—4 i hver Modercelle, kun rent undtagelsesvis iagttog jeg 5. (Se Fig. 1 b). Sporens Væg ses i Reglen tydeligere hos denne end hos de efterfølgende Arter. Disses Sporer have vistnok ogsaa i Almindelighed en stærkere Lysbrydning end den her omhandlede Arts.

Her som overhovedet hos alle Arterne er det almindeligt, at Askosporerne i en og samme Modercelle kunne have indbyrdes forskjellig Størrelse. Ligeledes iagttoges det hyppigt, at samme Modercelle paa een Gang har udviklet Askosporer og udskudt en Knop. Figurerne af nogle af de efterfølgende Arter vise endog det Tilfælde, at ikke blot Modercellen, men ogsaa Knoppen har udviklet Sporer. Grupperingen af Sporerne er den samme som hos alle

Arterne. Afbildningerne give en fyldig Forestilling om de Modifikationer, der kunne finde Sted heri.

I Fig. 1 c er der afbildet Celler med uudviklede Askosporer, nemlig det Stadium, der, som foran meddelt, blev benyttet til Bestemmelsen af den Tid, der medgaar til Udviklingen af Askosporerne, naar de vegetative Celler under de beskrevne Forhold udsættes for en eller anden bestemt Temperaturs Indvirkning. Fig. 1 a fremstiller en ejendommelig Udviklingsform, der ret ofte optræder. Cellerne ere her ved Vægge delte i flere Partier, som hvert for sig kunne udskyde Knopper. Jeg har i mine Optegnelser betegnet denne Udvikling som Skillevægdannelse, og med dette Navn vil den ogsaa blive kaldt hos de andre Arter, hvor jeg har iagttaget den. Til et nøjere Studium af, hvorledes den fremkommer, og af dens Betydning har jeg paa Grund af nærmere liggende Undersøgelser endnu ikke havt den fornødne Tid. Rimeligvis have tidligere Forfattere ogsaa iagttaget disse Dannelser, men sammenblandet dem med den egentlige Askosporedannelse.

. Nedenfor meddeles, med hvilke Tidsmellemrum Udviklingen af Askosporerne foregaar, naar de vegetative Celler underkastes den p. 65 omtalte Behandling; denne var saavel for Sacch. cerevisiæ I, som for de efterfølgende fem Arter den selvsamme.

Ved 37½° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 36-37° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 29 Timers Forløb
- 35° C. .... 25 —
- 33½° C. .... 23 —
- 30° C. .... 20 —
- 25° C. .... 23 —
- 23° C. .... 27 —
- 17½° C. .... 50 —
- 16½° C. .... 65 —
- 11-12° C. .... 10 Døgn.
- 9° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

Sacch. Pastorianus I.

Med dette Navn betegnes en Gjærsvamp, som jeg ret hyppig opfangede i Luftens Støv i et Bryggeri i Kjøbenhavn[1]). Naar den dyrkes i Urt, giver den Undergjæring og udvikler Celler, som

1) Emil Chr. Hansen, Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. I B. 4 Hefte, 1882, p. 381).

ligne Afbildningerne paa Tavle XI i Pasteur's »Études sur la bière« og Fig. 11—12, Tavle II, i Reess's »Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze«. Askosporerne (se min Kobbertavle Fig. 2) have i Almindelighed en Størrelse af $1^1/_2$—$3^1/_2$ Mikromillim.; kun yderst sjelden optræde de med en Diameter af indtil 5 Mikromillim. Som sædvanlig findes hyppigst det for Saccharomyces-Arterne normale Antal i hver Celle, nemlig 1—4, temmelig ofte iagttages dog ogsaa Celler hver med et større Antal, nemlig 5—10. Fig. 2 b giver Exempler derpaa. Ligesom nogle andre Arter er denne meget tilbøjelig til at udvikle mycelieagtige, grenede Kolonier af langstrakte Celler, naar den en Tid først har været udpint i Saccharose og derefter overføres i Urt eller i Gjærvand.

Ved at dyrke disse Kolonier i Gjærvand lykkedes det mig at bevare de langstrakte Celler. I Kulturer i Urt give de hurtig Plads for Udviklingen af ovale Celler. Det er navnlig ved at benytte en saadan Avl af langstrakte Celler fra Gjærvand til Udsæd paa Gibsblokke, at jeg opnaaede, at flere hver udviklede 5—10 Sporer. Ogsaa Skillevægdannelsen iagttog jeg hos denne Art. (Fig. 2 a).

Ved $31^1/_2$° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- $29^1/_2$—$30^1/_2$° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 30 T. F.
- 29° C. .... 27 —
- $27^1/_2$° C .... 24 —
- $23^1/_2$° C. .... 26 —
- 18° C. .... 35 —
- 15° C. .... 50 —
- 10° C. .... 89 —
- $8^1/_2$° C. .... 5 Døgn
- 7° C. .... 7 —
- 3-4° C. .... 14 —
- $^1/_2$° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

Sacch. Pastorianus II.

Ligesom den foregaaende blev denne Art temmelig almindelig iagttagen i de Analyser, som jeg i Aarene 1878—1881 foretog af Luftens Støv i det foran omtalte kjøbenhavnske Bryggeri. Dens Vegetation i Urt stemmer ogsaa overens med Pasteur's og Reess's citerede Afhandlinger af Sacch. Pastorianus. Sammenlignet med den foregaaende ere dens Celler i Reglen lidt større; men Forskjellen er i hvert Fald ikke fremtrædende, og sammenblandes de to Arter, saa vil det ikke være muligt ved direkte mikroskopiske Undersøgelser at afgjøre, om man har een eller flere for sig. I Modsætning til den foregaaende fremkalder den svage Overgjæringsfænomener.

Den maa derfor vel være forskjellig fra den Sacch. Pastorianus, hvormed Pasteur har experimenteret, thi om denne siges i »Études sur la bière«, at den er en Undergjærform. Dens Askosporer ere fremstillede i min Fig. 3. Ved a ses Skillevægdannelser, ved b to Celler med et større Antal Askosporer end det normale, i den ene findes 6, i den anden 7, og ovenover disse tilvenstre er afbildet en kort, pølsedannet Celle med 5. Denne viser, at Askosporerne kunne opnaa en betydelig Størrelse, ogsaa naar en Modercelle har fostret et Antal af dem, der er ud over det sædvanlige. Deres Størrelse varierer fra 2—5 Mikromillim.; Yderpunkterne ere sjeldne, navnlig gjælder dette om Størrelserne 4—5 Mikromillim.

Ved 29° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 27-28° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 34 T. F.
- 25° C. .... 25 —
- 23° C. .... 27 —
- 17° C. .... 36 —
- 15° C. .... 48 —
- $11^1/_2$° C. .... 77 —
- 7° C. .... 7 Døgn.
- 3-4° C. .... 17 —
- $^1/_2$° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

Sacch. Pastorianus III.

Denne Art har jeg udskilt af kjøbenhavnsk undergjæret Øl, som led af den Sygdom, man kalder Gjærtykhed. Den fremkalder kraftigere Overgjæringsfænomener end den nærmest foregaaende. Under Vegetationen i Urt have dens Celler samme Udseende som de to andre Arters, henhørende til denne Gruppe, navnlig ligne de meget nøje Sacch. Pastorianus I. I Kulturer paa Gibsblokke udvikle de ikke blot Askosporer (Fig. 4), men ogsaa i Lighed med de foregaaende Skillevægdannelser (Fig. 4 a); Celler hver med 5—10 Askosporer (Fig. 4 b) forekom ligeledes. Sporerne maalte 2—4 Mikromillim.; Størrelserne $3^1/_2$—4 vare sjeldne.

Ved 29° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 27-28° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 35 T. F.
- $26^1/_2$° C. .... 30 —
- 25° C .... 28 —
- 22° C. .... 29 —
- 17° C. .... 44 —
- 16° C. .... 53 —
- $10^1/_2$° C. .... 7 Døgn.
- $8^1/_2$° C. .... 9 —
- 4° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

Sacch. ellipsoideus I.

Den fandtes i Forening med andre Saccharomyces-Arter paa Overfladen af modne Druer, som jeg i Vinhøstens Tid plukkede i Vogeserne. Naar den dyrkes i Urt eller i Vindruemost, ligne Cellerne nærmest Reess's og Pasteur's Afbildninger af Sacch. ellipsoideus (Pasteur's »ferment alcoolique ordinaire du vin«). Ligesom de øvrige Arters kunne de ogsaa blive pølseformede og ved forskjellig Behandling overhovedet skifte Form. Reess's og Pasteur's Bestemmelser give derfor ligesaa lidt her, som nogetsteds paa dette Omraade bestemte Holdepunkter.

Sporerne har jeg afbildet i Fig. 5; en Skillevægdannelse i Fig. 5 a. Sporernes Diameter er 2—4 Mikromillim.; meget sjelden dog 3½—4.

Ved 32½° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 30½-31½° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 36 T. F.
- 29½° C. .... 23 —
- 25° C. .... 21 —
- 18° C. .... 33 —
- 15° C. .... 45 —
- 10½° C. .... 4½ Døgn
- 7½° C. .... 11 —
- 4° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

Sacch. ellipsoideus II.

I det foran omtalte gjærtykke Øl optraadte denne Art sammen med Sacch. Pastorianus III og en Sacch. cerevisiæ. Dyrkes Cellerne i Urt, saa have de saavel Lighed med Sacch. ellipsoideus I, som med Sacch. cerevisiæ. Fig. 6 fremstiller Celler med modne Askosporer; Fig. 6 c Anlægene dertil; det er dette Udviklingstrin, som har tjent til Bestemmelserne i nedenstaaende Tabel. Askosporerne vare 2—5 Mikromillim., Størrelserne fra 4—5 vare som sædvanlig ogsaa her sjeldne.

Ved 35° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 33-34° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 31 T. F.
- 33° C. .... 27 —
- 31½° C. .... 23 —
- 29° C. .... 22 —
- 25° C. .... 27 —
- 18° C. .... 42 —
- 11° C. .... 5½ Døgn
- 8° C. .... 9 —
- 4° C. udviklede Askosporerne sig ikke.

I mine ovenfor citerede Afhandlinger har jeg bestræbt mig for, saa vidt muligt, at give Exempler paa de forskjellige Former af askosporeførende Celler, hvormed hver af de omhandlede Arter kunne optræde, naar de dyrkes paa den beskrevne Maade. De ere derfor tegnede efter talrige Præparater og indskrænke sig følgelig ikke til det, der er det Hyppigste, men tage tillige Undtagelserne med.

Et Blik paa Tavlen viser hurtigt, at væsentlig de samme Former, Grupperinger og Størrelseforhold kunne optræde hos alle Arterne. Hos Sacch. cerevisiæ I opnaa Sporerne dog en Størrelse, der er Noget udover den, der hidtil er iagttagen hos de andre, nemlig 6 Mikromillim., medens den største Diameter hos de andre er 5 Mikromillim.; men fra dette Yderpunkt har man en hel Skala af Sporer, hvis Størrelse efterhaanden bevæger sig nedad til henimod 2 Mikromillim. Vi have saaledes ogsaa hos denne Art de Størrelser, der for de øvrige fem ere hyppige, nemlig $3^1/_2$—$2^1/_2$ Mikromillim. Hos Sacch. Pastorianus I iagttog jeg Sporer, som kun maalte $1^1/_2$ Mikromillim.; de vare altsaa $^1/_2$ Mikromillim. mindre end de mindste, der optraadte hos de øvrige Arter; jeg tvivler imidlertid ikke om, at man ved fortsat Søgen ogsaa vil kunne finde ligesaa smaa Sporer hos disse, navnlig gjælder dette om de tre sidst beskrevne.

Tænke vi os, at de paa Tavlen fremstillede Sporer sammenblandes, saa ville vi, naar vi ikke have Andet end selve Sporerne at holde os til, altsaa deres Størrelseforhold, Gruppering i Modercellen og Udseende, ikke kunne faa ret meget at vide om, hvilke Arter vi have for os. De faa store Sporer paa 6 Mikromillim. ville vi bestemme som Sacch. cerevisiæ I og de smaa paa $1^1/_2$ som Sacch. Pastorianus I; men hermed er ogsaa al vor Viden forbi, og, som ovenfor anført, have vi jo ikke en Gang paa disse to Punkter rigtig Sikkerhed. Hvad den store øvrige Mængde angaar, da kunne vi ikke have nogensomhelst Formodning om, hvorledes vi skulle gruppere dem.

Holde vi derimod fast ved det gamle System og lade os lede deraf, saa ville vi endog i de Former og Størrelseforhold, hvormed een og samme Arts askosporedannende Celler optræde, finde Exempler paa alle eller idetmindste paa de fleste af Systemets askosporedannende Arter. Fig. 2 viser dette tydeligt. Her findes Celler, der kunne bestemmes som Sacch. cerevisiæ, Sacch. ellipsoideus, Sacch. exiguus og Sacch. Pastorianus, altsaa fire af Systemets Arter repræsenterede i een. Ogsaa de andre Figurer give Exempler i den Retning. Idet Reess's System her kritiseres, maa det ikke

glemmes, at hans Bog for sin Tid var et fortjenstfuldt Arbejde; navnlig findes deri et dygtigt Angreb paa den da herskende Udskejelse i Læren om Pleomorfismen hos Svampene.

Ifølge det Foregaaende kunne vi allerede nu slaa fast, at hverken Cellens Form, Størrelseforhold eller Udseende for sig ere tilstrækkelige til at give Arts-Karakterer, og at det Samme gjælder om Askosporerne.

Taget fra et andet Synspunkt yder Cellens Form derimod vigtige Skjelnemærker. Det blev berørt saavel i Begyndelsen af dette Afsnit som ogsaa i min første Meddelelse fra 1882 om de nye Methoder til Undersøgelsen af Saccharomyces-Arterne, at de forskjellige Arters Celler, naar de underkastes en vis Behandling, da kunne antage forskjellige Former saaledes, at f. Ex. ovale Celler tvinges til at udvikle langstrakte, og disse til at udvikle ovale. Her er det atter den forskjellige Maade, hvorpaa Arterne reagere overfor de samme ydre Paavirkninger, der give os værdifulde Oplysninger.

De foran meddelte Forsøg over Udviklingen af Askosporerne have vist, at denne er afhængig af Temperaturen saaledes, at den indenfor de Grændser, hvor den kan finde Sted, foregaar langsomt ved de lave Temperaturer og hurtigere ved de højere indtil et vist Punkt, hvorfra den atter bliver langsommere for snart at standse. Hos ingen af de sex undersøgte Arter fandt denne Udvikling Sted ved lavere Temperaturer end en Varmegrad mellem $^1/_2$ og 3^0 C., og den højeste Temperatur, ved hvilken den endnu indtraadte, var en Varmegrad i Nærheden af $37^1/_2{}^0$ C. Paa Tab. I og II er Udviklingsgangen for de sex Arter fremstillet som ligesaa mange Kurver, der hver ere betegnede med sit tilsvarende Artsnavn. Varmegraderne ere afsatte paa Abscisseaxen, og de Tidsrum, der ved de paagjældende Temperaturer fordres til Udviklingen af Askosporerne, som Ordinater. I alle sex Tilfælde faa Kurverne hovedsagelig samme Form. De danne krumme Linier, som fra den laveste Varmegrads Ordinat stige ned mod Abscisseaxen og derefter atter fjerne sig lidt fra denne. Kardinalpunkterne, navnlig de af Maximums- og Minimumstemperaturerne bestemte, give derimod karakteristiske Skjelnemærker mellem Arterne.

Hos Sacch. cerevisiæ I standser saaledes denne Udvikling ved en Temperatur mellem 9 og 11 og ved $37—37^1/_2{}^0$ C.

Hos Sacch. Pastorianus I standser den ved en Temperatur mellem $^1/_2$ og 3 og ved en Temperatur mellem $30^1/_2$ og $31^1/_2{}^0$ C.

Hos Sacch. Pastorianus II fandtes Minimumstemperaturen ligeledes mellem $^1/_2$ og 3° C., men Maximumstemperaturen er her lavere end hos den foregaaende, nemlig i Nærheden af 28° C.

Sacch. Pastorianus III har samme Maximumstemperatur som Sacch. Pastorianus II; men dens Minimumstemperatur er en anden, den ligger nemlig mellem 4 og $8^1/_2$° C.

Væsentlig den samme Minimumstemperatur fandtes ogsaa hos Sacch. ellipsoideus I og II; hos den første laa Maximumstemperaturen imidlertid mellem $31^1/_2$ og $32^1/_2$ og hos den sidste mellem 34 og 35° C.

Optimumstemperaturen fandtes hos Sacch. cerevisiæ I nær 30° C.; kun lidt lavere var den hos Sacch. ellipsoideus II.

Hos Sacch. Pastorianus I iagttoges den i Nærheden af 27° C., hos Sacch. Pastorianus II og III samt Sacch. ellipsoideus I i Nærheden af 25° C.

Nærved Maximum krævede Udviklingen c. 30 Timer eller derover. Omkring 25° C. var der ikke stor Forskjel paa den Tid, som Udviklingen hos de undersøgte Arter krævede. Ved de lavere Temperaturer traadte Forskjellen derimod stærkere frem. Meget iøjnefaldende er den, naar Udviklingstiden ved $11^1/_2$° C. hos Sacch. cerevisiæ I sammenlignes med den tilsvarende Udviklingstid hos de andre Arter. Ved den nævnte Temperatur krævede Sacch. cerevisiæ I nemlig 10 Døgn for at udvikle Askosporer, hvorimod Sacch. Pastorianus I og II brugte mindre end 4, Sacch. Pastorianus III mindre end 7, Sacch. ellipsoideus I mindre end $4^1/_2$ og Sacch. ellipsoideus II mindre end $5^1/_2$ Døgn. Her som allevegne er det kun de ved direkte Undersøgelser fundne Punkter i Kurverne, der ved Sammenligningerne benyttes.

Ifald alle Forsøgsrækkerne vare blevne udførte ved de samme Temperaturer, vilde der vistnok kunne være kommen flere oplysende Sammenligninger frem i den Retning. Da jeg benyttede Panum's store sammensatte Thermostat (beskreven i nærværende Tidsskrifts I B. 1. H., p. 48) lod det sig imidlertid ikke gjøre, og uden dette Apparat vilde jeg ikke have været i Stand til i en rimelig Tid at gjennemføre denne Undersøgelse; thi dels var Forsøgenes Antal stort, og de fleste strakte sig, som foranstaaende Tabeller vise, gjennem flere Døgn, ved Minimumsgrændsen bleve de endog fortsatte indtil 2 Maaneder, og dels blev der benyttet et temmelig betydeligt Antal Temperaturer mellem 0 og 38° C. Under disse Forhold kunde der følgelig ikke godt være Tale om at indrette en særskilt Thermostat for hver enkelt af de ønskede

Temperaturer; og med Hensyn til Bestemmelsen af Kurverne faar det naturligvis ejheller nogen Indflydelse.

I det foregaaende Afsnit blev der meddelt, at den til Askosporekulturerne anvendte Gjær ikke blot i alle Tilfælde bestod af unge, kraftige Celler, men af Celler, avlede under de samme Betingelser. Som det erindres blev den først dyrket en Tid ved almindelig Stuevarme i Urt, og unge, kraftige Celler herfra overførte i ny Urt af idetmindste hovedsagelig samme Beskaffenhed som den tidligere anvendte (c. 14 % Ball.). Der blev bestandig anvendt de foran omtalte tohalsede Pasteurske Kolber. De sidstnævnte Kulturer bleve foretagne ved c. 27° C. i henved 1 Døgn. Alle disse Bestemmelser have deres Betydning. I Forsøgene viste det sig nemlig, at der er kjendelig Forskjel paa de erholdte Resultater, om Gjæren, der udsaas paa Gibsblokkene, har været dyrket 1 eller 2 Døgn ved 27° C. I begge Tilfælde se dog de avlede Celler ud til at være kraftige og unge og have overhovedet væsentlig det selv samme Udseende. Efterfølgende Tabel viser Askosporernes Udviklingsgang, naar den til Kulturerne paa Gibsblokkene anvendte Gjær af Sacch. Pastorianus I har været dyrket 2 Døgn ved den nævnte Temperatur:

Ved 29° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 28° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 36 T. F.
- 27° C. ....29 —
- 23° C. ....30 —
- 15° C. ....54 —

Sammenholdes denne Tabel med den p. 69 gjengivne, der viser Udviklingsgangen, naar den benyttede Gjær stammer fra en Kultur ved den nævnte Temperatur af kun omtrent 1 Døgns Varighed, saa træder Forskjellen ved de høje Temperaturer strax frem. Hos Cellerne fra 2 Døgns Kulturen standser Udviklingen af Askosporer allerede ved en Temperatur mellem 28 og 29° C., hvorimod Cellerne fra 1 Døgns Kulturen endnu udvikle disse Formeringsredskaber ved $29^1/_2$—$30^1/_2$° C. Ved 28° C. kræve Cellerne fra 2 Døgns Kulturen 36 Timer, og Cellerne fra 1 Døgns Kulturen kun lidt over 24 Timer til Dannelsen af Askosporer. Cellerne fra 2 Døgns Kulturen udviklede tilmed ved den sidste Temperatur kun et ringe Antal Sporer, hvorimod Cellerne fra 1 Døgns Kulturen gave en rig Udvikling. Det er rimeligvis den under den fortsatte Gjæring forøgede Alkoholmængde, der efterhaanden svækker Cellernes Evne i den nævnte Retning.

Disse Iagttagelser give Anledning til en særlig Undersøgelse over hvilke Betingelser, der ere de gunstigste for Udviklingen af

Askosporerne. Rimeligvis ville de forskjellige Arter ogsaa i den Retning forholde sig forskjellig. Denne Undersøgelse ligger imidlertid noget udenfor mit nærværende Arbejdes Plan, og den opsættes derfor til en senere Tid.

Selv om de foran omtalte Hensyn tages, og der overhovedet sørges for, saa vidt som muligt, at alle de Forsøg, hvis Resultater skulle sammenlignes, bestandig anstilles nøjagtigt paa samme Maade, ville Svingninger dog gjøre sig gjældende. Jeg har derfor gjentaget hver Forsøgsrække flere Gange, og de angivne Tal ere Middeltal, fundne ved Beregning af 3—4 Forsøg. Det ligger i Sagens Natur, at fysiologiske Undersøgelser af denne Art ikke kunne gaa med den ensformige Nøjagtighed som rent kemiske. Man kan ikke operere med en levende Organisme som med et dødt Stof; thi Organismen betyder en Uendelighed af mere eller mindre forskjellige Tilstande, hvilke hver for sig kunne faa Indflydelse paa Resultaterne af vore Experimenter. Det vil sige: den samme Organisme kan overfor de samme ydre Paavirkninger forholde sig forskjellig efter den vexlende Tilstand, hvori den befinder sig i det Øjeblik, da den underkastes Forsøget. Skulle vore Experimenter yde virkelige Bidrag til at udfinde Lovene, saa maa vi erindre dette, og vi maa idetmindste i Hovedtrækkene udklare Grændserne for os. Intet Resultat paa dette Omraade gjælder fuldt ud for alle Tilfælde, men kun indenfor visse Grændser, visse Betingelser, ikke blot udenfor Organismen, men ogsaa hos denne selv, og det er en væsentlig Opgave at bestemme og saa nøje som muligt at angive disse. Alt dette er egentlig i sig selv indlysende; dog have som Regel de fleste Arbejder over de lavere Organismers Fysiologi, hvorom Talen her er, indskrænket sig til at behandle de ydre Faktorers Indvirkning, og kun undtagelsesvis finder man Exempler paa, at der er taget Hensyn til Tilstanden af den eller de Organismer, hvormed der experimenteredes.

De i det Foregaaende meddelte Oplysninger hjælpe os til nogenlunde at forstaa, hvorledes Vildfarelserne og de modstridende Meninger, hvorpaa Literaturen om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces er saa rig, ere komne frem. Eidam har rimeligvis arbejdet med en ren eller temmelig ren Øl-Undergjær; den udvikler som Regel langsomt og sparsomt Askosporer; have nu Cellerne ovenikjøbet ikke været unge og kraftige, saa forstaas det let, at han kun opnaaede et negativt Resultat. Ogsaa Nattekulden eller

en uheldig Dyrkningsmaade vil kunne have hæmmet Udviklingen. Andre Forskere, som tvertimod opnaaede en rig og hurtig Udvikling, have opereret med saadanne Arter som Sacch. cerevisiæ I eller med vilde Gjærarter, der ere villige til at frembringe disse Formeringsorganer. At paavise, hvorledes Fejlene i hvert enkelt Tilfælde ere opstaaede, vil som oftest være umuligt; det har desuden ej heller stor Interesse. Om Brefeld's Vildfarelser er der talt i 1ste Afsnit.

P. 41 blev det berørt, at van Tieghem i en af sine Afhandlinger om Mucorineerne udtaler den ejendommelige Anskuelse, at Askosporedannelsen er en pathologisk Udvikling, der skyldes Bakteriers Indgriben. Det er imidlertid ikke vanskeligt at overbevise sig om, at han har været uheldig med sin nye Tydning. Indretter man f. Ex. Kulturerne paa Gibsblokkene med særlig Omhu, saa vil man her i Reglen erholde en rig Udvikling af Askosporer, uden at man ved den mikroskopiske Undersøgelse kan opdage en eneste Bakterie. Det samme er Tilfældet, naar man benytter de p. 66 beskrevne Objektglas med Gelatinehinder til Forsøgene.

For imidlertid at erholde en aldeles sikker Afgjørelse af, om Gjærceller kunne udvikle Askosporer eller ej, naar Bakterier ere udelukkede, anstillede jeg følgende Forsøg: I en $^{1}/_{8}$ Liters Pasteursk Kolbe blev der steriliseret lidt Gelatine med indblandet Olurt. Under Afkjølingen blev Kolben drejet saaledes, at denne Næringsgelatine, medens den stivnede, kom til at danne en Hinde paa en stor Del af den indvendige Væg, og Kolben sattes derpaa i Forbindelse med en anden Kolbe, hvori der fandtes en Renkultur af unge, kraftige Celler af Sacch. ellipsoideus I. Nogle af disse bleve derpaa tilligemed lidt steriliseret Vand førte over i Kolben med Gelatinehinden og ved Rystning udbredte i et tyndt Lag paa denne. Den største Del af det overførte Vand samlede sig paa Bunden af den sidst omtalte Kolbe og tjente her til at vedligeholde en passende Fugtighed. Selve Gjærcelle-Kulturen befandt sig ovenover Vandet. Af saadanne Kolber blev der præpareret et lille Antal, hvoraf nogle bleve satte ind i Thermostaten ved 25, andre ved 17° C. Efter kort Tids Forløb indeholdt de alle askosporeførende Celler, men uden at det var muligt at opdage en eneste Bakterie, ejheller da de i længere Tid havde været udsatte for den nævnte Temperatur; dog vare Livsbetingelserne gunstige herfor. Alle Arbejderne bleve naturligvis udførte saaledes, at fremmede Mikroorganismer holdtes borte. Et lignende Udfald fik et andet Forsøg, som blev anstillet med Sacch. Pastorianus I eller II. Mine Optegnelser give ikke nærmere Oplysninger om, hvilken

af de to Arter det var, der blev prøvet. Gjæren blev anbragt i en af de omtalte Kolber med steriliseret Gjærvand. Denne Vædske blev derpaa i nogen Tid stærkt luftet, men saaledes, at den bevaredes ren. Temmelig talrige Celler udviklede efterhaanden Askosporer; af Bakterier fandtes derimod intet Spor, Forsøget blev anstillet ved c. 24° C. Saavel Temperaturen som Næringsvædsken vare følgelig særdeles gunstige for en Udvikling af Bakterier, og disse vilde ogsaa have givet sig tilkjende, hvis de havde været tilstede. Alle ovenstaaende Forsøg vise saaledes tydeligt, at den franske Botanikers Opfattelse er urigtig.

Askosporerne have større Modstandskraft overfor Opvarmning i Vand end de unge, vegetative Celler. Dette fremgaar af følgende Forsøg.

Sacch. ellipsoideus II blev en Tidlang dyrket i Urt ved almindelig Stuevarme, og af den herved fremkaldte Avl udsaaedes derpaa unge, kraftige Celler i lignende Urt. Sidstnævnte Kultur blev henstillet 2 Døgn ved c. 27° C., og af den saaledes avlede Gjær blev en lille Portion overført i steriliseret destilleret Vand, hvis Temperatur var 54° C. Det viste sig da, at de efter at have tilbragt 5 Minutter neddykkede i Vandet og udsatte for den nævnte Temperatur endnu vare levende; en Opvarmning under lignende Forhold i 5 Minutter ved 56° C. taalte de derimod ikke.

Fuldmodne Askosporer, udviklede ved 17—18° C., som i Løbet af 8 Døgn vare blevne delvis indtørrede paa Gibsblokke ved den nævnte Temperatur, taalte derimod under de ovenfor beskrevne Forhold en Opvarmning i 5 Minutter ved 62, men derimod ikke 5 Minutter ved 66° C.

Lignende Forsøg bleve udførte med Sacch. cerevisiæ I; de viste, at de vegetative Celler, naar de vare dyrkede paa samme Maade som foregaaende Gjærarts, kun formaa at udholde en Opvarmning i 5 Minutter ved 52° C.; efter 5 Minutters Opvarmning ved 54° C. vare de derimod døde.

Bleve dens Askosporer behandlede som den foregaaende Arts, bevarede de deres Livskraft efter en Opvarmning i 5 Minutter ved 58° C., men ikke efter 5 Minutter ved 62° C.

Ovenstaaende Forsøg lære os ikke blot, at de fuldmodne Sporer taale en stærkere Opvarmning i Vand end de unge, vegetative Celler, men de give os tillige nye Beviser for, at der er Forskjel i den Maade, hvorpaa Arterne reagere overfor Temperaturerne.

Ligesom i Forsøgene over Udviklingen af Askosporerne gjælder det ogsaa her, at Tilstanden af de Celler, hvormed man opererer, faar en stor Indflydelse. I høj Grad bliver f. Ex. Resultatet bestemt deraf, om Experimentet udføres med gamle eller med unge Celler. Et slaaende Exempel herpaa havde jeg i Forsøgene med Sacch. ellipsoideus II. Til Sammenligning med de foran beskrevne, i hvilke der blev experimenteret med unge Celler fra en Kultur, der kun var 2 Døgn gammel, anstillede jeg et tilsvarende Forsøg med Celler fra en lignende, men $2^1/_2$ Maaned gammel Kultur. Disse gamle Celler taalte en Opvarmning i 5 Minutter ved 60° C., og det er ikke en Gang rimeligt, at Dødsgrændsen her var naaet. I Bundgjæren fandtes talrige Celler af den paa Øllets Overflade værende stærkt udviklede »levûre aérobie«. Om det var dennes eller selve Bundgjærens Celler, som havde udholdt den stærke Opvarmning, har jeg endnu ikke undersøgt. Disse Experimenter fortsættes imidlertid her paa Laboratoriet, og jeg vil forhaabentlig i sin Tid kunne give nøjere Oplysninger om dette og de andre herhenhørende Spørgsmaal.

Ogsaa paa Knopskydningen udøver Temperaturen en forskjellig Indflydelse overfor de forskjellige Arter. De Undersøgelser, jeg i den Retning hidtil har udført, have navnlig lært, at Arternes Maximumstemperaturer ikke ere de samme. Der vil følgelig ligeledes ad den Vej kunne findes Karakterer.

Til Slutning skal endnu omtales et interessant Exempel paa Temperaturens Indvirkning paa Cellerne af Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærformen).

Om denne Gjærform meddeler Pasteur i »Études sur la bière« p. 191, at den, naar den har tilbragt Maaneder i Saccharose eller i det Øl, som den ved sin Gjæring har frembragt, dog ikke som Sacch. Pastorianus faar Tilbøjelighed til at udvikle langstrakte Celler, naar den derpaa overføres i en god Næringsvædske, f. Ex. i luftet Urt, men derimod udvikler Celler med den normale Form. Dette er nu ikke ganske rigtigt. Forholdene ved disse Forsøg med udpint Gjær ere mere komplicerede, end Pasteur har tænkt sig. Det spiller navnlig en vigtig Rolle, om Dyrkningen i Urt foregaar ved en højere eller ved en lavere Temperatur. I nedenstaaende Forsøg vil jeg nærmere paavise dette:

Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærform) blev i Løbet af et Aar dyrket i Saccharose med gjentagne Fornyelser af Vædsken i Forsøgets Begyndelse. Efter det nævnte Tidsrums Udløb blev en lille Portion af den saaledes udpinte Gjær overført i to Kolber med Urt, som derpaa bleve satte ind i Thermostaten, den ene ved 27,5

Hos Sacch. Pastorianus II fandtes Minimumstemperaturen ligeledes mellem 1/2 og 3° C., men Maximumstemperaturen er her lavere end hos den foregaaende, nemlig i Nærheden af 28° C.

Sacch. Pastorianus III har samme Maximumstemperatur som Sacch. Pastorianus II; men dens Minimumstemperatur er en anden, den ligger nemlig mellem 4 og 8½° C.

Væsentlig den samme Minimumstemperatur fandtes ogsaa hos Sacch. ellipsoideus I og II; hos den første laa Maximumstemperaturen imidlertid mellem 31½ og 32½ og hos den sidste mellem 34 og 35° C.

Optimumstemperaturen fandtes hos Sacch. cerevisiæ I nær 30° C.; kun lidt lavere var den hos Sacch. ellipsoideus II.

Hos Sacch. Pastorianus I iagttoges den i Nærheden af 27° C., hos Sacch. Pastorianus II og III samt Sacch. ellipsoideus I i Nærheden af 25° C.

Nær ved Maximum krævede Udviklingen c. 30 Timer eller derover. Omkring 25° C. var der ikke stor Forskjel paa den Tid, som Udviklingen hos de undersøgte Arter krævede. Ved de lavere Temperaturer traadte Forskjellen derimod stærkere frem. Meget iøjnefaldende er den, naar Udviklingstiden ved 11½° C. hos Sacch. cerevisiæ I sammenlignes med den tilsvarende Udviklingstid hos de andre Arter. Ved den nævnte Temperatur krævede Sacch. cerevisiæ I nemlig 10 Døgn for at udvikle Askosporer, hvorimod Sacch. Pastorianus I og II brugte mindre end 4, Sacch. Pastorianus III mindre end 7, Sacch. ellipsoideus I mindre end 4½ og Sacch. ellipsoideus II mindre end 5½ Døgn. Her som allevegne er det kun de ved direkte Undersøgelser fundne Punkter i Kurverne, der ved Sammenligningerne benyttes.

Ifald alle Forsøgsrækkerne vare blevne udførte ved de samme Temperaturer, vilde der vistnok kunne være kommen flere oplysende Sammenligninger frem i den Retning. Da jeg benyttede Panum's store sammensatte Thermostat (beskreven i nærværende Tidsskrifts I B. 1. H., p. 48) lod det sig imidlertid ikke gjøre, og uden dette Apparat vilde jeg ikke have været i Stand til i en rimelig Tid at gjennemføre denne Undersøgelse; thi dels var Forsøgenes Antal stort, og de fleste strakte sig, som foranstaaende Tabeller vise, gjennem flere Døgn, ved Minimumsgrændsen bleve de endog fortsatte indtil 2 Maaneder, og dels blev der benyttet et temmelig betydeligt Antal Temperaturer mellem 0 og 38° C. Under disse Forhold kunde der følgelig ikke godt være Tale om at indrette en særskilt Thermostat for hver enkelt af de ønskede

Temperaturer; og med Hensyn til Bestemmelsen af Kurverne faar det naturligvis ejheller nogen Indflydelse.

I det foregaaende Afsnit blev der meddelt, at den til Askosporekulturerne anvendte Gjær ikke blot i alle Tilfælde bestod af unge, kraftige Celler, men af Celler, avlede under de samme Betingelser. Som det erindres blev den først dyrket en Tid ved almindelig Stuevarme i Urt, og unge, kraftige Celler herfra overførte i ny Urt af idetmindste hovedsagelig samme Beskaffenhed som den tidligere anvendte (c. 14 % Ball.). Der blev bestandig anvendt de foran omtalte tohalsede Pasteurske Kolber. De sidstnævnte Kulturer bleve foretagne ved c. 27° C. i henved 1 Døgn. Alle disse Bestemmelser have deres Betydning. I Forsøgene viste det sig nemlig, at der er kjendelig Forskjel paa de erholdte Resultater, om Gjæren, der udsaas paa Gibsblokkene, har været dyrket 1 eller 2 Døgn ved 27° C. I begge Tilfælde se dog de avlede Celler ud til at være kraftige og unge og have overhovedet væsentlig det selv samme Udseende. Efterfølgende Tabel viser Askosporernes Udviklingsgang, naar den til Kulturerne paa Gibsblokkene anvendte Gjær af Sacch. Pastorianus I har været dyrket 2 Døgn ved den nævnte Temperatur:

Ved 29° C. udviklede Askosporerne sig ikke.
- 28° C. viste de første tydelige Anlæg sig efter 36 T. F.
- 27° C. ....29 —
- 23° C. ....30 —
- 15° C. ....54 —

Sammenholdes denne Tabel med den p. 69 gjengivne, der viser Udviklingsgangen, naar den benyttede Gjær stammer fra en Kultur ved den nævnte Temperatur af kun omtrent 1 Døgns Varighed, saa træder Forskjellen ved de høje Temperaturer strax frem. Hos Cellerne fra 2 Døgns Kulturen standser Udviklingen af Askosporer allerede ved en Temperatur mellem 28 og 29° C., hvorimod Cellerne fra 1 Døgns Kulturen endnu udvikle disse Formeringsredskaber ved $29^1/_2$—$30^1/_2$° C. Ved 28° C. kræve Cellerne fra 2 Døgns Kulturen 36 Timer, og Cellerne fra 1 Døgns Kulturen kun lidt over 24 Timer til Dannelsen af Askosporer. Cellerne fra 2 Døgns Kulturen udviklede tilmed ved den sidste Temperatur kun et ringe Antal Sporer, hvorimod Cellerne fra 1 Døgns Kulturen gave en rig Udvikling. Det er rimeligvis den under den fortsatte Gjæring forøgede Alkoholmængde, der efterhaanden svækker Cellernes Evne i den nævnte Retning.

Disse Iagttagelser give Anledning til en særlig Undersøgelse over hvilke Betingelser, der ere de gunstigste for Udviklingen af

Askosporerne. Rimeligvis ville de forskjellige Arter ogsaa i den Retning forholde sig forskjellig. Denne Undersøgelse ligger imidlertid noget udenfor mit nærværende Arbejdes Plan, og den opsættes derfor til en senere Tid.

Selv om de foran omtalte Hensyn tages, og der overhovedet sørges for, saa vidt som muligt, at alle de Forsøg, hvis Resultater skulle sammenlignes, bestandig anstilles nøjagtigt paa samme Maade, ville Svingninger dog gjøre sig gjældende. Jeg har derfor gjentaget hver Forsøgsrække flere Gange, og de angivne Tal ere Middeltal, fundne ved Beregning af 3—4 Forsøg. Det ligger i Sagens Natur, at fysiologiske Undersøgelser af denne Art ikke kunne gaa med den ensformige Nøjagtighed som rent kemiske. Man kan ikke operere med en levende Organisme som med et dødt Stof; thi Organismen betyder en Uendelighed af mere eller mindre forskjellige Tilstande, hvilke hver for sig kunne faa Indflydelse paa Resultaterne af vore Experimenter. Det vil sige: den samme Organisme kan overfor de samme ydre Paavirkninger forholde sig forskjellig efter den vexlende Tilstand, hvori den befinder sig i det Øjeblik, da den underkastes Forsøget. Skulle vore Experimenter yde virkelige Bidrag til at udfinde Lovene, saa maa vi erindre dette, og vi maa idetmindste i Hovedtrækkene udklare Grændserne for os. Intet Resultat paa dette Omraade gjælder fuldt ud for alle Tilfælde, men kun indenfor visse Grændser, visse Betingelser, ikke blot udenfor Organismen, men ogsaa hos denne selv, og det er en væsentlig Opgave at bestemme og saa nøje som muligt at angive disse. Alt dette er egentlig i sig selv indlysende; dog have som Regel de fleste Arbejder over de lavere Organismers Fysiologi, hvorom Talen her er, indskrænket sig til at behandle de ydre Faktorers Indvirkning, og kun undtagelsesvis finder man Exempler paa, at der er taget Hensyn til Tilstanden af den eller de Organismer, hvormed der experimenteredes.

De i det Foregaaende meddelte Oplysninger hjælpe os til nogenlunde at forstaa, hvorledes Vildfarelserne og de modstridende Meninger, hvorpaa Literaturen om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces er saa rig, ere komne frem. Eidam har rimeligvis arbejdet med en ren eller temmelig ren Øl-Undergjær; den udvikler som Regel langsomt og sparsomt Askosporer; have nu Cellerne ovenikjøbet ikke været unge og kraftige, saa forstaas det let, at han kun opnaaede et negativt Resultat. Ogsaa Nattekulden eller

en uheldig Dyrkningsmaade vil kunne have hæmmet Udviklingen. Andre Forskere, som tvertimod opnaaede en rig og hurtig Udvikling, have opereret med saadanne Arter som Sacch. cerevisiæ I eller med vilde Gjærarter, der ere villige til at frembringe disse Formeringsorganer. At paavise, hvorledes Fejlene i hvert enkelt Tilfælde ere opstaaede, vil som oftest være umuligt; det har desuden ej heller stor Interesse. Om Brefeld's Vildfarelser er der talt i 1ste Afsnit.

P. 41 blev det berørt, at van Tieghem i en af sine Afhandlinger om Mucorineerne udtaler den ejendommelige Anskuelse, at Askosporedannelsen er en pathologisk Udvikling, der skyldes Bakteriers Indgriben. Det er imidlertid ikke vanskeligt at overbevise sig om, at han har været uheldig med sin nye Tydning. Indretter man f. Ex. Kulturerne paa Gibsblokkene med særlig Omhu, saa vil man her i Reglen erholde en rig Udvikling af Askosporer, uden at man ved den mikroskopiske Undersøgelse kan opdage en eneste Bakterie. Det samme er Tilfældet, naar man benytter de p. 66 beskrevne Objektglas med Gelatinehinder til Forsøgene.

For imidlertid at erholde en aldeles sikker Afgjørelse af, om Gjærceller kunne udvikle Askosporer eller ej, naar Bakterier ere udelukkede, anstillede jeg følgende Forsøg: I en $^1/_8$ Liters Pasteursk Kolbe blev der steriliseret lidt Gelatine med indblandet Ølurt. Under Afkjølingen blev Kolben drejet saaledes, at denne Næringsgelatine, medens den stivnede, kom til at danne en Hinde paa en stor Del af den indvendige Væg, og Kolben sattes derpaa i Forbindelse med en anden Kolbe, hvori der fandtes en Renkultur af unge, kraftige Celler af Sacch. ellipsoideus I. Nogle af disse bleve derpaa tilligemed lidt steriliseret Vand førte over i Kolben med Gelatinehinden og ved Rystning udbredte i et tyndt Lag paa denne. Den største Del af det overførte Vand samlede sig paa Bunden af den sidst omtalte Kolbe og tjente her til at vedligeholde en passende Fugtighed. Selve Gjærcelle-Kulturen befandt sig ovenover Vandet. Af saadanne Kolber blev der præpareret et lille Antal, hvoraf nogle bleve satte ind i Thermostaten ved 25, andre ved 17° C. Efter kort Tids Forløb indeholdt de alle askosporeførende Celler, men uden at det var muligt at opdage en eneste Bakterie, ejheller da de i længere Tid havde været udsatte for den nævnte Temperatur; dog vare Livsbetingelserne gunstige herfor. Alle Arbejderne bleve naturligvis udførte saaledes, at fremmede Mikroorganismer holdtes borte. Et lignende Udfald fik et andet Forsøg, som blev anstillet med Sacch. Pastorianus I eller II. Mine Optegnelser give ikke nærmere Oplysninger om, hvilken

af de to Arter det var, der blev prøvet. Gjæren blev anbragt i en af de omtalte Kolber med steriliseret Gjærvand. Denne Vædske blev derpaa i nogen Tid stærkt luftet, men saaledes, at den bevaredes ren. Temmelig talrige Celler udviklede efterhaanden Askosporer; af Bakterier fandtes derimod intet Spor, Forsøget blev anstillet ved c. 24⁰ C. Saavel Temperaturen som Næringsvædsken vare følgelig særdeles gunstige for en Udvikling af Bakterier, og disse vilde ogsaa have givet sig tilkjende, hvis de havde været tilstede. Alle ovenstaaende Forsøg vise saaledes tydeligt, at den franske Botanikers Opfattelse er urigtig.

Askosporerne have større Modstandskraft overfor Opvarmning i Vand end de unge, vegetative Celler. Dette fremgaar af følgende Forsøg.

Sacch. ellipsoideus II blev en Tidlang dyrket i Urt ved almindelig Stuevarme, og af den herved fremkaldte Avl udsaaedes derpaa unge, kraftige Celler i lignende Urt. Sidstnævnte Kultur blev henstillet 2 Døgn ved c. 27⁰ C., og af den saaledes avlede Gjær blev en lille Portion overført i steriliseret destilleret Vand, hvis Temperatur var 54⁰ C. Det viste sig da, at de efter at have tilbragt 5 Minutter neddykkede i Vandet og udsatte for den nævnte Temperatur endnu vare levende; en Opvarmning under lignende Forhold i 5 Minutter ved 56⁰ C. taalte de derimod ikke.

Fuldmodne Askosporer, udviklede ved 17—18⁰ C., som i Løbet af 8 Døgn vare blevne delvis indtørrede paa Gibsblokke ved den nævnte Temperatur, taalte derimod under de ovenfor beskrevne Forhold en Opvarmning i 5 Minutter ved 62, men derimod ikke 5 Minutter ved 66⁰ C.

Lignende Forsøg bleve udførte med Sacch. cerevisiæ I; de viste, at de vegetative Celler, naar de vare dyrkede paa samme Maade som foregaaende Gjærarts, kun formaa at udholde en Opvarmning i 5 Minutter ved 52⁰ C.; efter 5 Minutters Opvarmning ved 54⁰ C. vare de derimod døde.

Bleve dens Askosporer behandlede som den foregaaende Arts, bevarede de deres Livskraft efter en Opvarmning i 5 Minutter ved 58⁰ C., men ikke efter 5 Minutter ved 62⁰ C.

Ovenstaaende Forsøg lære os ikke blot, at de fuldmodne Sporer taale en stærkere Opvarmning i Vand end de unge, vegetative Celler, men de give os tillige nye Beviser for, at der er Forskjel i den Maade, hvorpaa Arterne reagere overfor Temperaturerne.

Ligesom i Forsøgene over Udviklingen af Askosporerne gjælder det ogsaa her, at Tilstanden af de Celler, hvormed man opererer, faar en stor Indflydelse. I høj Grad bliver f. Ex. Resultatet bestemt deraf, om Experimentet udføres med gamle eller med unge Celler. Et slaaende Exempel herpaa havde jeg i Forsøgene med Sacch. ellipsoideus II. Til Sammenligning med de foran beskrevne, i hvilke der blev experimenteret med unge Celler fra en Kultur, der kun var 2 Døgn gammel, anstillede jeg et tilsvarende Forsøg med Celler fra en lignende, men $2^1/_2$ Maaned gammel Kultur. Disse gamle Celler taalte en Opvarmning i 5 Minutter ved 60° C., og det er ikke en Gang rimeligt, at Dødsgrændsen her var naaet. I Bundgjæren fandtes talrige Celler af den paa Øllets Overflade værende stærkt udviklede »levûre aérobie«. Om det var dennes eller selve Bundgjærens Celler, som havde udholdt den stærke Opvarmning, har jeg endnu ikke undersøgt. Disse Experimenter fortsættes imidlertid her paa Laboratoriet, og jeg vil forhaabentlig i sin Tid kunne give nøjere Oplysninger om dette og de andre herhenhørende Spørgsmaal.

Ogsaa paa Knopskydningen udøver Temperaturen en forskjellig Indflydelse overfor de forskjellige Arter. De Undersøgelser, jeg i den Retning hidtil har udført, have navnlig lært, at Arternes Maximumstemperaturer ikke ere de samme. Der vil følgelig ligeledes ad den Vej kunne findes Karakterer.

Til Slutning skal endnu omtales et interessant Exempel paa Temperaturens Indvirkning paa Cellerne af Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærformen).

Om denne Gjærform meddeler Pasteur i »Études sur la bière« p. 191, at den, naar den har tilbragt Maaneder i Saccharose eller i det Øl, som den ved sin Gjæring har frembragt, dog ikke som Sacch. Pastorianus faar Tilbøjelighed til at udvikle langstrakte Celler, naar den derpaa overføres i en god Næringsvædske, f. Ex. i luftet Urt, men derimod udvikler Celler med den normale Form. Dette er nu ikke ganske rigtigt. Forholdene ved disse Forsøg med udpint Gjær ere mere komplicerede, end Pasteur har tænkt sig. Det spiller navnlig en vigtig Rolle, om Dyrkningen i Urt foregaar ved en højere eller ved en lavere Temperatur. I nedenstaaende Forsøg vil jeg nærmere paavise dette:

Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærform) blev i Løbet af et Aar dyrket i Saccharose med gjentagne Fornyelser af Vædsken i Forsøgets Begyndelse. Efter det nævnte Tidsrums Udløb blev en lille Portion af den saaledes udpinte Gjær overført i to Kolber med Urt, som derpaa bleve satte ind i Thermostaten, den ene ved 27,

den anden ved $7^1/_2{}^0$ C. I den førstnævnte af disse begyndte Gjæringen at vise sig efter næppe 2 Døgns Forløb. Ved den mikroskopiske Undersøgelse iagttoges det, at de nydannede Celler havde hovedsagelig den normale Form; de vare nemlig i Reglen ovale, sjeldnere kort pølsedannede, og optraadte enten enkeltvis eller i faacellede Kolonier. Kolben, som blev sat ind ved den lave Temperatur, viste først efter 14 Døgn svage Tegn til Gjæring. De nydannede Celler havde da et fra det Sædvanlige aldeles afvigende Udseende; deres Lysbrydning var nemlig svagere end ellers, og i Henseende til Formen var der foregaaet en meget paafaldende Omdannelse. Langstrakte Celler vare nemlig nu hyppige, og ikke sjelden dannede de sammenfiltrede Kolonier med mycelieagtige Forgreninger. De svarede, kort sagt, ikke længere til det Billede, man i Almindelighed danner sig af Sacch. cerevisiæ, men lignede derimod aldeles Pasteur's Afbildninger af Sacch. Pastorianus, f. Ex. Fig. 33, 34, 36 og 37, p. 171—175, i hans fornylig citerede Bog. Et lignende Forsøg anstillede jeg med Bundgjær, som havde staaet et Par Maaneder i Øl. Resultatet blev i alt Væsentligt det samme. I begge Tilfælde blev der naturligvis arbejdet med fuldstændig rene Kulturer. De gamle udpinte Gjærceller, som overførtes i Urt, udviklede altsaa ved $7^1/_2{}^0$ C. en Vegetation, hvis Celler havde et helt andet Udseende end de, der dannedes ved 27^0 C.

Tilbageblik.

I det første Afsnit af denne Afhandling have vi draget de sidste 15 Aars Literatur over vort Emne frem til kritisk Belysning. Vi stiftede her Bekjendtskab med nogle faa værdifulde Iagttagelser, men med flere grove Vildfarelser og Forsyndelser mod god Methode, med modstridende Anskuelser og med ubegrundede Paastande.

Om Engel's Meddelelse angaaende den ejendommelige Udvikling af Sporer hos Sacch. apiculatus erfarede vi, at den beror paa en Vildfarelse, og at hans nye Slægt, Carpozyma, følgelig ikke kan godkjendes.

Brefeld's Undersøgelser over Forholdene mellem Kulturgjær og vild Gjær, saa vi, ere forfejlede, og den Theori, som han byggede derpaa, altsaa uholdbar.

Paa samme Maade forholder det sig med van Tieghem's nye Tydning af Askosporerne som en pathologisk Dannelse, fremkaldt af Bakterier.

Ogsaa Wiesner's nye tekniske Methode viste sig at være urigtig.

Det sikre Resultat, som blev Udbyttet af de undersøgte Arbejder, skyldes navnlig Reess og indskrænker sig til den Oplysning, at Arter af Slægten Saccharomyces under visse, endnu overfladisk kjendte Vilkaar, kunne danne endogene Celler, og at disse i passende Næringsvædske udvikle sig til vegetative Celler med Knopskydning. Af Engel's Afhandling lærte vi en forbedret Methode til at foretage Askospore-Kulturer; den bestaar deri, at der anvendes fugtige Gibsblokke i Stedet for de af Reess anbefalede Skiver af Gulerødder, Kartofler o. s. v.

Ved at undersøge de Methoder, som Pasteur i sit berømte Værk om Øllet og dets Sygdomme har anvendt til Studiet af Saccharomyces-Arterne, kom vi til den Erkjendelse, at de ere utilstrækkelige, og at man ikke ad den af ham betraadte Vej kan komme ud over det Svævende og Usikre. Med Hensyn til det vigtige Spørgsmaal om Renkulturer saa vi, at medens han har ført Sagens ene Side frem til en høj Grad af Fuldkommenhed, har han derimod kun gjort lidet for den anden. Han har givet fortrinlige Anvisninger til under Experimenterne at bevare den tilstedeværende Kultur fri for fremmed Infektion, men de Methoder, han anvender for at erholde Renkulturer af Saccharomyces-Arterne, ere mangelfulde og kunne i de fleste Tilfælde slet ikke føre til Maalet. Heri fandt vi, at Aarsagen maa søges til den Uklarhed og til de Fejl, hvoraf hans Behandling af Alkoholgjærsvampene i nogle Retninger lider.

Vi erfarede, at hverken Gjærcellens Form, Størrelseforhold, Udseende eller Askosporer for sig ere tilstrækkelige til at give Arts-Karakterer, og at man, naar en passende Behandling anvendes, da af en af Arterne kan faa Former udviklede, som kunne henføres til alle de af Reess opførte askosporedannende Species. For Øjeblikket er det tilmed endnu et uafgjort Spørgsmaal, om de herhenhørende Former udgjøre et eller flere Species. Dette System gav os altsaa ejheller nogen sikker Vejledning.

Undersøgelserne maatte derfor optages fra nye Synspunkter, og Opgaven blive den: først at uddanne Methoden saaledes, at der kunde erholdes Vegetationer, der hver for sig stamme fra en eneste Celle, og dernæst at udfinde, om disse Renkulturer frembyde konstante Karakterer, og i saa Fald, hvilke disse ere.

Det er af sig selv indlysende, at man ved i tilstrækkelig Grad at fortynde en Vædske, hvori der findes Celler af en eller anden Mikroorganisme, tilsidst vil kunne naa et Punkt, hvor man

i et vist Maal af den fortyndede Blanding, ifald Cellerne ere jævnt fordelte deri, kun har en eneste Celle. Flere Forskere have i de sidste Aar med mere eller mindre Kritik benyttet denne Fremgangsmaade.

De fleste af de i ovenstaaende Experimenter anvendte Renkulturer bleve fremstillede derved, at en lille Portion Gjær anbragtes i en i Forvejen afvejet Vandmasse. Cellernes Antal blev derpaa bestemt ved Hjælp af Hæmatimetret, og derefter blev den i Vandet indblandede Gjær fortyndet saaledes, at der i den endelige Vandblanding kun fandtes et meget ringe Antal Celler, f. Ex. 0,5 i hver Kub.-Cent. Ved at overføre 1 Kub.-Cent. heraf i hver af et større Antal Kolber med Ølurt fik vi da en vis Sandsynlighed for, at nogle vilde blive inficerede med een Celle.

I andet Afsnit, hvor Methodens Rækkeevne blev undersøgt, fandt vi imidlertid, at det ikke altid gaar efter den mathematiske Beregning. Undertiden indeholdt f. Ex. Vandet, der blev benyttet til Infektionen, slet ingen og i andre Tilfælde flere Celler end oprindelig beregnet. Denne Ulempe undgaas, naar mit p. 52 beskrevne kvadrerede Dækglas benyttes.

Som foran berørt have vi kun en vis Sandsynlighed for, at nogle af vore inficerede Kolber have modtaget hver een Celle. Det gjaldt altsaa om at finde et Kjendetegn, ved Hjælp af hvilket det var muligt at udskille disse fra de øvrige. Denne vigtige Karakter fandtes i Følge den p. 55 meddelte Udvikling i de dannede Gjærpletters Antal.

En anden Kontrol blev udført paa den Maade, at to kjendte Gjærarter (Sacch. apiculatus og Sacch. cerevisiæ), som ved deres Form med Sikkerhed kunde skjelnes fra hinanden, bleve sammenblandede i vedkommende Kolbe med Vand. Efter Experimentets Udførelse vare de atter blevne adskilte og fandtes hver for sig i de Kolber med Næringsvædske, som bleve inficerede; et tydeligt Bevis paa Methodens Brugbarhed.

Ogsaa den, navnlig af Koch udviklede Methode til Fremstilling af Renkulturer af Mikroorganismer blev benyttet, dog med nogle Tillæmpninger. I en Gelatineopløsning med passende Næringsvædske bleve vedkommende Gjærceller ved Rystning saa vidt muligt jævnt fordelte, og det Hele derefter hældt ud paa en i Forvejen flammerenset Glasplade, der hurtigt anbragdes under en fugtig Glasklokke ved almindelig Stuevarme eller ved c. 25° C.

Ligesom de tidligere blev ogsaa denne Methode underkastet en experimentel Prøve ved Hjælp af den karakteristiske citronformede Gjærsvamp, Sacch. apiculatus. Vi erfarede heraf, at de

Gjærpletter, der udviklede sig, vel i Reglen hver indeholdt kun een Art, men at dette ingenlunde altid var Tilfældet. Spørgsmaalet blev da, hvorledes vi skulde kunne undgaa disse truende Undtagelser. Hertil aabner der sig navnlig to Veje. Man kan gjentage Forsøget med Celler fra en af de udviklede Vegetationspletter, og har man ikke i det første Forsøg været saa heldig at erholde en Udsæd af een Celle, er der Sandsynlighed for, at dette vil ske i de følgende. Med fuldstændig Sikkerhed vil man dog, som vi lærte, kun kunne naa Maalet, naar man foretager Dyrkningen i et fugtigt Kammer. I den Hensigt blev den flydende Gelatine med de deri indblandede Gjærceller anbragt paa et tyndt Dækglas i et tyndt Lag og derpaa blev dette fæstnet til Bøttcher's eller mit fugtige Kammer. Iblandt de indstøbte Celler opsøgtes nu en, hvis Beliggenhed var en saadan, at den havde Plads til at udvikle en særskilt Koloni uden Fare for at komme i Berøring med de andre, og Skridt for Skridt overbeviste vi os om, at den saaledes efterhaanden dannede Koloni virkelig stammede fra den ene oprindelig iagttagne Celle. Da Næringsbunden er fast, er denne Undersøgelse langtfra saa vanskelig, som hvis vi havde benyttet en Vædske.

Ved Undersøgelser, der, som de foreliggende, strække sig gjennem flere Aar, har det sin Betydning at udfinde bekvemme Opbevaringsmidler, ved Hjælp af hvilke Gjærcellerne kunne holdes levende i lang Tid og fri for Infektion. Dette, lærte vi, blev opnaaet ved Hjælp af den p. 63 beskrevne Vædske og ved Hjælp af Indtørring paa Filtrerpapir, p. 63.

Hovedindholdet af nærværende Afhandling udgjøres af en Række Undersøgelser over Askosporedannelsen. Til de herhenhørende Dyrkningsforsøg bleve Engel's Gibsblokke i Reglen anvendte. At Objektglas med Gelatinehinder yde et bekvemt Middel til at foretage disse Kulturer, naar den Temperatur, man anvender, ikke er for høj, have vi set; og ligeledes, at man i Gjærvand, som luftes, kan fremkalde den nævnte Udvikling.

Afbildningerne paa medfølgende Kobbertavle vise os Exempler paa de ejendommelige Udviklingsformer, som i Afhandlingen blive kaldte Skillevægdannelser. Der er ligeledes fremstillet Celler, hver indeholdende et større Antal Askosporer end det normale, nemlig 5—10. Det erindres, at navnlig Arterne af Gruppen Pastorianus viste Tilbøjelighed til i den Retning at gaa udenfor Reglen. Forøvrigt lærte vi atter, at de samme Grupperinger og Størrelseforhold kunne optræde hos alle de undersøgte Arter, og at man ikke ad den Vej kan erholde Arts-Karakterer.

Spørgsmaalet blev da stillet paa en anden Maade, idet Udviklingsgangen under Indflydelsen af forskjellige Temperaturer blev undersøgt. Herved erholdt vi værdifulde Oplysninger.

Vi erfarede, at ingen af de sex Arter under de angivne Dyrkningsforhold udviklede Askosporer ved en lavere Temperatur end en Varmegrad mellem $^1/_2$ og 3^0 C., og at den højeste Temperatur, ved hvilken de endnu dannedes, ligger i Nærheden af $37^1/_2{}^0$ C. Temperaturkurverne for denne Udvikling have i alle sex Tilfælde hovedsagelig samme Form. De danne krumme Linier, som fra de laveste Varmegraders Ordinater stige ned mod Abscisseaxen og derefter atter fjerne sig lidt fra denne. Kardinalpunkterne, navnlig de af Maximums- og Minimumstemperaturerne bestemte, give derimod karakteristiske Skjelnemærker mellem Arterne.

Det er sandsynligt, at en saadan komparativ Undersøgelse, udført fra et lignende Standpunkt, ogsaa vil kunne bringe Opklaring paa Bakteriernes Omraade. Min første Meddelelse fra 1882 har allerede henledet nogle Forskeres Opmærksomhed i den Retning, men endnu er ingen bestemt Undersøgelse fremkommen. Maaske vil der her træde større Vanskeligheder frem end dem, hvormed ovenstaaende Experimenter maatte kæmpe.

Ved at betragte den Tid, som de sex Arter ved en og samme Temperatur kræve til Udviklingen af Askosporer, fandt vi, at der ligeledes her kan vise sig Differenser; dette saas f. Ex. af den Sammenligning, vi foretoge ved $11^1/_2{}^0$ C.

Det blev fremhævet, at det ved saadanne Undersøgelser ikke er tilstrækkeligt blot at bestemme de ydre Forhold, hvorunder Dyrkningsforsøgene blive udførte, men at vi tillige maa sørge for, at Cellerne af de Arter, hvormed vi experimentere, ere avlede under samme Vilkaar. Vi maa overhovedet vel erindre, at Organismen betyder en Uendelighed af forskjellige Tilstande, hvilke hver for sig kunne faa Indflydelse paa Udfaldet af vore Experimenter. Idetmindste i Hovedtrækkene maa vi udklare Grændserne for os.

Ogsaa i andre Retninger saa vi, at der er Forskjel i den Maade, hvorpaa Arterne reagere overfor Temperaturen.

Sacch. ellipsoideus II taalte saaledes en stærkere Opvarmning i Vand end Sacch. cerevisiæ I, dette gjaldt saavel, naar Sammenligningen foretoges med de to Arters Sporer, som naar den foretoges med deres unge, vegetative Celler. Samme Arts fuldt modne Askosporer taalte en stærkere Opvarmning end de helt unge, vegetative Celler.

Med Hensyn til Knopskydningen lærte vi ligeledes, at Temperaturen udøver en forskjellig Indflydelse overfor de forskjellige Arter.

De sidst omhandlede Experimenter viste os endelig et interessant Exempel paa, hvorledes Temperaturen i visse Tilfælde formaar at bestemme Cellens Form.

Experimenterne have saaledes udvidet sig til sideliggende Spørgsmaal, og Afhandlingens Indhold er herved egentlig blevet et Bidrag til en almindelig Undersøgelse over den Indflydelse, som Temperaturen udøver paa Saccharomyces-Arterne, naar disse befinde sig under forskjellige Livsforhold, bestandig dog med særligt Hensyn til det fra Begyndelsen stillede Hovedspørgsmaal om Arterne og disses Begrændsning.

Forklaring over Tavlerne.

De to Tavler med Kurverne.

Temperaturen er afsat paa Abscisseaxen, og de Tidsrum, der ved de paagjældende Varmegrader kræves til Udviklingen af Askosporerne, som Ordinater.

Tab. I.

Saccharomyces cerevisiæ I. p. 68 og 73—74.
Saccharomyces Pastorianus I. p. 69 og 73—75.
Saccharomyces Pastorianus II. p. 70 og 74.

Tab. II.

Saccharomyces Pastorianus III. p. 70 og 74.
Saccharomyces ellipsoideus I. p. 71 og 74.
Saccharomyces ellipsoideus II. p. 71 og 74.

Kobbertavlen.

Alle Figurerne ere forstørrede c. 1000 Gange, lineær. **a** betegner Celler med Skillevægdannelserne, **b** Celler, hvori der findes et større Antal Askosporer end det normale, **c** Celler med tydelige Anlæg til Askosporer; det er dette Udviklingstrin, der er blevet benyttet til Bestemmelsen af den Tid, der ved forskjellige Temperaturer kræves til Dannelsen af disse Formeringslegemer.

Fig. 1. Saccharomyces cerevisiæ I. p. 67.
- 2. Saccharomyces Pastorianus I. p. 68.
- 3. Saccharomyces Pastorianus II. p. 69.
- 4. Saccharomyces Pastorianus III. p. 70.
- 5. Saccharomyces ellipsoideus I. p. 71.
- 6. Saccharomyces ellipsoideus II. p. 71.

III.

Om Pasteur's Torula.

Naar man i længere Tid foretager omfattende Undersøgelser over Saccharomyces-Arterne, vil man ikke kunne undgaa ofte at træffe paa de gjærsvampelignende Celler, Pasteur i sin Bog om Øllet og dets Sygdomme har kaldt Torula; de ere meget udbredte og tilhøre, som det vil ses af det Følgende, flere Arter. For at erholde Overblik og Sikkerhed paa dette Omraade bliver man nødsaget til, idetmindste til en vis Grad, ogsaa at underkaste disse Celler et nøjere Studium. I nærværende Tidsskrifts I B. 4 Hefte gav jeg nogle faa Meddelelser derom; jeg har imidlertid senere forøget mine Iagttagelser i den Retning og føjet nye Bidrag til det, Pasteur har meddelt. Da jeg ikke i en overskuelig Fremtid vil komme tilbage til disse Undersøgelser, agter jeg nu at give en samlet Fremstilling af, hvad vi i Øjeblikket vide om disse Former.

Paa Tavle III i det citerede Værk har Pasteur afbildet to Former af sin Torula, en større og en mindre, men begge kuglerunde, og i hans Fig. 12, p. 75, gjenfinde vi dels de samme, dels Kolonier af langstrakte og kort pølsedannede Celler i Knopskydning. Alle disse Figurer have stor Lighed med Saccharomyces-Arter, og de langstrakte Celler kunne tillige efter Formen henføres til Dematium eller lignende Skimmelsvampe. Om her foreligger forskjellige Arter eller ej, afgjøres ikke, men det antydes, at alle disse i saa høj Grad forskjellige Skikkelser godt kunne tænkes at høre genetisk sammen, og han kommer atter paa dette Punkt tilbage til sin Yndlingstanke, at man, hvis man var saa heldig at faa nogle Kolber med Næringsvædske inficerede hver med en eneste af disse Celler, da ogsaa, selv om de alle hørte til een Art, vilde

erholde ligesaa mange forskjellige Varieteter, som man havde Vegetationer, der hver stammede fra een Celle. At de ikke høre til Saccharomyces-Arterne, slutter han deraf, at de kun danne yderst ringe Mængder Alkohol, endog efterat de have tilbragt meget lang Tid i en gjæringsdygtig Næringsvædske. Kulsyreudvikling med Skumdannelse iagttog han ejheller i noget Tilfælde. Han er tilbøjelig til at antage, at de høre genetisk sammen med Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini), og ved at foretage Analyser af Luftens Støv paa forskjellige Steder fik han det Indtryk, at de navnlig vare talrige i hans Laboratorium.

Af saadanne smaa runde, gjærsvampelignende Celler som dem, Pasteur afbilder paa sin Tavle III, har jeg iagttaget 5 forskjellige Arter.

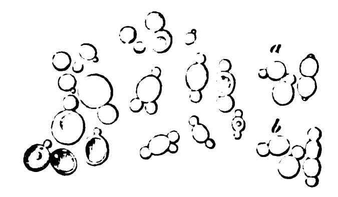


Fig. 1.

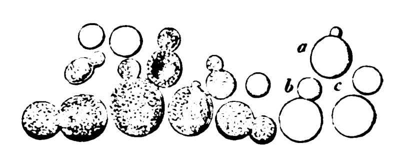


Fig. 2.

Fig. 1 forestiller en af dem. Dyrkes disse Celler i Ølurt, saa finder man dem her enten enkeltvis eller i faacellede Kolonier. I sidste Tilfælde danne de ofte Kjæder paa 3—4 Celler. Naar der optræder Vakuoler, findes der i Reglen een stor i Cellens Midte, og heri iagttages undertiden et stærkt lysbrydende lille Korn. Cellerne maalte $1^1/_2$—$4^1/_2$ Mikromillim.

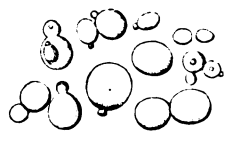
Fig. 1 a viser nogle Celler i begyndende Knopskydning, og i b ses de samme Celler efter næppe 1 Times Forløb. De bleve dyrkede i Ølurt i Ranvier's Kammer ved almindelig Stuevarme. I Urt og i Sukkeropløsninger frembragde de først efter lang Tids Henstand en næppe kjendelig Alkoholmængde uden Spor af Skumdannelse; Invertin udsondrede de ikke.

I ovenstaaende Fig. 2 er der fremstillet en Art, hvis Celler, naar de dyrkes under samme Forhold som den foregaaende Arts, da ere større end dennes; de vare nemlig 3—8 Mikromillim. I Urt-Kulturer blev deres Protoplasma ofte grynet og kom til at indeholde stærkt lysbrydende smaa Korn. Forøvrigt forholdt de sig væsentlig som foregaaende.

Fig. 2 a forestiller en Celle, som har udskudt en lille Knop; i b ses samme Celle efter $1^1/_2$ og i c efter $3^1/_2$ Times Forløb.

Forsøget blev anstillet i Ranvier's Kammer paa samme Maade som hos den foregaaende.

En tredie Art, som i Udseende og Størrelseforhold meget nøje ligner den i Fig. 2 afbildede, gav derimod i lignende Kulturer i Urt (14 % Ball.) indtil $^7/_8$ Vol. % Alkohol; paa den gjærende Vædskes Overflade optraadte der i dette Tilfælde en ringe, men tydelig Skumdannelse, og Analyserne paaviste med Sikkerhed, at der havde fundet en Udvikling af Kulsyre Sted. Endnu efter 16 Døgns Henstand ved almindelig Stuevarme i en Saccharose-Opløsning havde den ikke inverteret denne.


Fig. 3.

Den i hosstaaende Fig. 3 aftegnede Form stod i Henseende til Størrelsen midt imellem de foran beskrevne; dens Celler maalte nemlig 2—6 Mikromillim. I fysiologisk Henseende adskilte den sig væsentlig fra de tre foregaaende, idet den nemlig inverterede Saccharose, og i Urt (14 % Ball.) og Sukkeropløsninger frembragde en ret kraftig Alkoholgjæring (lidt over 1 Vol. %) med stærk Skumdannelse.

De beskrevne 4 Arter stemme overens deri, at de ved at dyrkes paa fugtige Gibsblokke, Kartoffelskiver og Gelatinehinder med forskjellige Næringsvædsker hverken udviklede Askosporer eller Mycelium, men ligesom i de sukkerholdige Næringsvædsker kun formerede sig ved Knopskydning.

I ingen af de til Dyrkningen benyttede Vædsker (Urt, Øl, Gjærvand, Dextrose- og Saccharose-Opløsninger) dannede de Hinder som Sacch. Mycoderma.

Efter flere Maaneders Henstand af Urt-Kulturerne fremkom der her lignende Hindedannelser som de, der ogsaa hos Saccharomyces-Arterne ere almindelige (Pasteur's »levûre aérobie«). Disse ere imidlertid af en hel anden Natur end Mycoderma-Hinderne og maa ikke forvexles hermed. I »levûre aérobie«-Dannelserne vare Cellerne af den tredie af de beskrevne Arter ofte langstrakte; de øvrige Arters havde derimod det sædvanlige Udseende.

Naar de foran beskrevne Arter efter i lang Tid at have været udpinte i Saccharose, bleve overførte i Urt, formerede de sig her paa sædvanlig Vis ved Knopskydning, og de nydannede Celler vare kuglerunde ligesom tidligere, uden at vise nogen Tilbøjelighed til i Lighed med, hvad der er almindeligt hos visse Saccharomyces-Arter, at antage en langstrakt Form.

At der ogsaa iblandt disse saakaldte Torula findes virkelig hindedannende Former, der altsaa i den Retning have Lighed med

Sacch. Mycoderma, har jeg i Løbet af det sidste Aar ofte havt Lejlighed til at iagttage. En af disse, som blev særlig undersøgt, lignede nærmest Fig. 1. Den udviklede ved almindelig Stuevarme hurtig en jævn, mat, graaladen Hinde over hele Vædskens Overflade, naar den var udsaaet i Urt, Gjærvand, Lagerøl eller endog i stærkt alkoholrige Næringsvædsker (10 Vol. %). Paa Saccharose-Opløsninger dannede den kun en svagt udviklet Hinde, og den inverterede denne Vædske.

Efter i flere Maaneder at have været dyrket i Saccharose, blev den overført i Urt, hvor den ogsaa dannede kraftige Vegetationer, men kun kuglerunde Celler. Kjendelig Gjæring fremkaldte den ikke, og man havde Vanskelighed ved, endog naar den i meget lang Tid havde været dyrket i Urt, at paavise svage Spor af Alkohol deri.

I Kulturer paa Gibsblokke, Kartoffelskiver og Næringsgelatine dannede den hverken Askosporer eller Mycelium. Den bevarede, kort sagt, under alle Dyrkningsforhold sin kuglerunde Form.

Det følger af sig selv, at de ovenomtalte Forsøg bleve foretagne med Renkulturer, og at de benyttede Vædsker vare steriliserede. Figurerne vise i alle Tilfælde de paagjældende Celler i en Forstørrelse af 1000 Gange lineær.

Uagtet de fysiologiske Differenser, som de fem Arter frembyde, er det dog ikke muligt ved mikroskopisk Undersøgelse alene at skjelne imellem dem. Saavel ved paafaldende som gjennemfaldende Lys vise de sig at være farveløse, og overfor mikrokemiske Reagenser forholde de sig ens og paa samme Maade som de Saccharomyces-Arter, der i den Retning hidtil ere blevne undersøgte.

Som foran berørt, ere disse Torula-Celler, som Pasteur har kaldt dem, meget udbredte. I de Undersøgelser, som jeg i Aarene 1878—1881 foretog over Luftens Mikroorganismer i og omkring Carlsberg, iagttoges de jævnlig saavel inde i Lokalerne som i det Frie. Hyppig har jeg fundet dem i Blomster og paa andre Plantedele, saaledes ogsaa paa modne Druer i Vogeserne under Vinhøsten i 1881, samt saavel i Have- som i Markjord. Meget almindelig fandtes de i Haarklædningen af overvintrede Bier og Humler og ligeledes i disse Insekters Boliger.

Paa Grund af deres store udvortes Lighed med runde Celler af Saccharomyces-Arterne kunne de let forvexles med disse. Saadanne Fejltagelser ere ogsaa ofte begaaede. Vildledende ere navnlig de Former, der, som den fjerde i min ovenfor meddelte Beskrivelse, have en temmelig udviklet Fermentvirksomhed.

Det eneste Skjelnemærke, som vi her i Øjeblikket kunne opstille, er Askosporedannelsen. Denne findes ikke hos vore Torula-Celler, og vi henregne dem derfor ikke til Slægten Saccharomyces. De af Pasteur undersøgte Torula fremkaldte, som det erindres, enten slet ingen eller i det Højeste en yderst ringe Alkoholgjæring, og paa Grund heraf sluttede han, at de ikke kunne henføres til den nævnte Slægt. I det Foregaaende saa vi imidlertid, at der af hans Torula findes en Række Former med mere og mindre udviklet Fermentvirksomhed, og at der herved dannes en hel Skala fra det Punkt, hvor det ikke er muligt med Sikkerhed at iagttage nogen Alkoholgjæring, og til det, hvor denne ret kraftig træder frem. Ad den Vej kunne vi følgelig ikke finde nogen Grændse. Idet Askosporedannelsen drages frem som adskillende Karakter, maa det ikke glemmes, at iblandt de Arter, som i Almindelighed henføres til den nævnte Slægt, findes en, nemlig Sacch. Mycoderma, om hvilken det er tvivlsomt, om den kan udvikle Askosporer eller ej, og en anden, nemlig Sacch. apiculatus, om hvilken det nu vides, at den idetmindste ikke udvikler disse Formeringsorganer under de Forhold, hvor de hidtil undersøgte Arter danne dem. I Øjeblikket vilde det imidlertid være overilet at omforme Systemet og indføre nye Navne; dette maa vente, til alle de nødvendige Undersøgelser ere blevne gjennemførte.

Mærkeligt er det, at Pasteur selv ingen Forsøg har anstillet over Askosporedannelsen. Følgen heraf er bleven den, at hans Disciple ej heller have havt deres Opmærksomhed henvendt i den Retning.

I de talrige Dyrkningsforsøg, som jeg paa forskjellig Maade anstillede med de beskrevne fem Arter, viste der sig intet Tegn til, at de, som Pasteur er tilbøjelig til at tro, skulde være Former af Sacch. Mycoderma. Det er vel ogsaa mere sandsynligt, at de ere Udviklingstrin af højere staaende Svampe. Der kjendes jo nu mange Exempler paa, at saadanne kunne udvikle gjærsvampelignende Celler, navnlig har f. Ex. De Bary paavist dette hos Dematium pullulans og Exoascus Pruni og Zopf hos Fumago. Udelukket er naturligvis ejheller den Mulighed, at de kunne være selvstændige Arter, som ikke optræde med andre Former end de af Pasteur og mig beskrevne.

Iblandt Pasteur's Afbildninger i hans Fig. 12 findes der nogle, som dels minde om Sacch. Mycoderma og dels om hans »Dematium-levûre«. Usandsynligt er det ikke, at vi her have de samme Former for os, hvorom jeg i dette Tidsskrifts I B. 4 Hefte, p. 409, gav nogle Meddelelser. Det er mere eller mindre langstrakte,

grenede, farveløse Celler, og de have Lighed med visse Udviklingstrin af Dematium pullulans. De af mig i sin Tid undersøgte gave enten slet ingen eller meget svag Alkoholgjæring; Saccharose-Opløsning inverterede de derimod hurtigt.

Slægtsnavnet, Torula, blev først indført i Systemet af Persoon 1796 i hans Observationes mycologicæ. Oprindelig betegnede Navnet Hyfomyceter med rosenkrandsformede, enkelte eller grenede Kjæder, hvis runde eller ovale Led kunne skilles ad hver for sig. Corda og andre af den Tids Mykologer have afbildet ret talrige Arter. Af Beskrivelserne og de kolorerede Figurer ses, at de kunne optræde med forskjellige Farver: graa, brune, sorte, røde, gule eller grønne. Efterhaanden blev Slægtsnavnet et Pulterkammer for en Mængde indbyrdes meget forskjellige Skikkelser, og den gamle Betydning, der laa i Ordet, blev ikke længere strængt respekteret. Saaledes kom Navnet ogsaa til at betegne Øl-Gjærsvampen. I Turpin's berømte Afhandling om Alkohol- og Eddikesyregjæringen fra 1838 kaldes denne nemlig Torula cerevisiæ. Senere har Cohn indført det i sin systematiske Beskrivelse af Bakterier, nemlig om de rosenkrandsformede Kjæder, som Mikrokokker kunne danne.

Navnet Torula har altsaa den uheldige Egenskab, at der ikke længere er knyttet en bestemt Betydning dertil.

Hovedresultatet af disse Undersøgelser bliver, at der i Naturen findes almindelig udbredt flere Arter af gjærsvampelignende Celler, hvis fysiologiske Forhold vi i nogle Retninger kjende, men om hvis systematiske Stilling vi endnu kun vide meget lidet. I Sammenligning med de kraftigst virkende Saccharomyces-Arter fremkalde de kun en svag Alkoholgjæring (Undergjæring), og nogle besidde vistnok slet ikke denne Evne. Nogle invertere Saccharose-Opløsninger, andre mangle derimod denne Fermentvirksomhed. Idetmindste en af de hidtil undersøgte Arter dannede hurtigt Hinder paa Overfladen af de Næringsvædsker, hvori den blev udsaat, ligemeget enten disse indeholdt Alkohol eller ej; de andre formaaede derimod ikke dette.

IV.

Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe.

Det er strængt taget ikke korrekt at kalde de uheldige Forandringer, som Øllet kan undergaa, Sygdomme, thi dette Ord betyder en vis Tilstand hos en levende Organisme og kan derfor egentlig ikke anvendes om døde Gjenstande. Sproget tillader sig imidlertid, som bekjendt, mange Friheder, og er det oprindeligt Lovløse blevet gjentaget tilstrækkeligt længe af Forfattere med et berømt Navn, saa faar det tilsidst Hævd. Paa denne Maade er det ogsaa gaaet i det foreliggende Tilfælde. Pasteur har i sine gjæringsfysiologiske Arbejder almindeligt benyttet Ordet i den angivne Betydning, og i ansete Værker over Ølfabrikationen, f. Ex. i Lintner's og Thausing's, tales der ligeledes om Sygdomme i Øl og om Sygdomsfermenter. Det vilde sikkert ogsaa være vanskeligt at finde et bedre Ord, og nu, da dets nye Betydning kan siges at være slaaet fast, kunde en Forandring næppe anses for heldig. Ligesom i mine tidligere Skrifter vil jeg derfor fremdeles benytte det i den angivne Betydning.

Iblandt de Sygdomme, som Alkoholgjærsvampene kunne fremkalde i Øl, er der en, der i de sidste Aar har tildraget sig stor Opmærksomhed saavel herhjemme som navnlig i Tydskland. Den har foraarsaget mange Bryggerier store Tab og staar endnu trods Alt, hvad der er skrevet derom, som en faretruende Gaade. Jeg tænker paa den Sygdom, som bestaar deri, at undergjæret Øl bliver gjærtykt. Strax efter Lagringens Slutning, naar det tappes af Fadene i de kolde Kjældere, er det klart, og med blotte Øjne er

det ikke muligt at opdage Gjær deri, men har det i Foustager eller i Flasker, hvori det blev aftappet, været nogle faa Dage udsat for en noget højere Temperatur end den, der fandtes i vedkommende Lagerkjælder, f. Ex. blot for almindelig Stuevarme, saa danner der sig et mere eller mindre rigeligt Gjærbundfald, som ved en endog temmelig ringe Bevægelse i Vædsken mudres op og gjør denne plumret. Der er flere Grader i denne Sygdom; er den stærkt udviklet, bliver Øllet, som er angrebet deraf, allerede 1—2 Døgn efter Aftapningen stærkt gjærtykt, saa at det ikke kan drikkes; findes Sygdommen i en mildere Grad, kan det holde sig flere Dage, navnlig hvis Temperaturen ikke er for høj; saadant Øl vil i Henseende til Holdbarhed dog bestandig staa tilbage for det, der er sundt.

Der er, som antydet, skrevet en hel Del om dette for Gjæringsindustrien saa vigtige Spørgsmaal. I alle Lærebøger fra den nyere Tid om Ølbrygning er det blevet behandlet, og det er ligeledes ofte blevet drøftet i Afhandlinger i forskjellige Bryggeri-Tidsskrifter. Iagttagelser fra den praktiske Drift ere her blevne sammenstillede, og Formodninger om Aarsagen til Ondet udtalte. Nogle Forfattere mene, at det er en fremmed Gjærsvamp, Sacch. exiguus, som fremkalder Sygdommen, andre antage derimod, at den har sin Grund deri, at den almindelige Bryggerigjær selv, Sacch. cerevisiæ, er degenereret, saa at den i Stedet for at udvikle store, vægtfyldige Celler udvikler smaa, lette.

Der findes i den berørte Literatur, der jo, som omtalt, er Udtryk for de forskjellige Opfattelser, tænksomme Praktikere have dannet sig af Fænomenet, gode Vink, som give Anledning til Overvejelse. Det er imidlertid indlysende, at en Løsning af Spørgsmaalet ikke kan erholdes gjennem en Diskussion paa Grundlag af spredte Iagttagelser, men kun gjennem en planmæssig gjennemført, experimentel Undersøgelse. En saadan forelægges her for første Gang Offentligheden.

For nogle faa Uger siden havde et af de større kjøbenhavnske Bryggerier det Uheld, at den omtalte Sygdom sneg sig ind i dets Drift. I temmelig lang Tid huserede den her og fremkaldte en ikke ringe Skade. Først da Bryggeriet havde standset en Tid og faaet saavel Lokalerne som Karrene og alle Redskaberne grundigt rensede, malede og ferniserede, var Ondet bekæmpet, og da Driften igjen optoges med god Gjær fra et andet Etablissement, blev dets Øl atter ligesom tidligere holdbart. Da jeg besluttede at forsøge paa om muligt at opklare denne dunkle

Sag, henvendte jeg mig, medens Sygdommen endnu var paa sit Højeste, til Bestyreren af det hjemsøgte Bryggeri med Anmodning om af og til at erholde Prøver af Øllet paa dets forskjellige Stadier. Disse saavelsom de Oplysninger, jeg ønskede, bleve mig tilstillede med stor Beredvillighed, og udtaler jeg herved min Tak derfor.

Ved Hjælp af de i en af mine foregaaende Afhandlinger meddelte Methoder p. 51, isolerede jeg de Arter af Mikroorganismer, der fandtes i det syge Øl. Af Alkoholgjærsvampe erholdt jeg paa denne Maade tre Arter, nemlig Sacch. cerevisiæ (en Undergjærform, Hovedbestanddelen af Bryggeriets Gjær), Sacch. Pastorianus III (en Overgjærform, se p. 70) og Sacch. ellipsoideus II (en Undergjærform, se p. 71).

Mit Forsøg gik derefter ud paa at afgjøre, om Sygdommen skyldtes nogen af de to sidste Gjærarter. I den Hensigt blev der først anstillet en Række Experimenter med 6 Pasteurske Kolber; hvoraf hver indeholdt 700 Kub.-Cent. af samme steriliserede Urt. Til to af Kolberne, der vare mærkede A, blev derpaa til hver sat $1^{1}/_{4}$ Kub.-Cent. af den omtalte Sacch. cerevisiæ, til hver af to, mærkede B, 1 Kub.-Cent. af samme Gjær og desuden $^{1}/_{4}$ Kub.-Cent. af Sacch. ellipsoideus II, til hver af to, mærkede C, 1 Kub.-Cent. ligeledes af samme Sacch. cerevisiæ og $^{1}/_{4}$ Kub.-Cent. af Sacch. Pastorianus III. Den anvendte Gjær var i alle Tilfælde temmelig tykflydende og i den Henseende nogenlunde ens, den var avlet i Renkulturer under samme Forhold og bestod af unge, kraftige Celler.

Hovedgjæringen foregik ved almindelig Stuevarme; i C optraadte svage Overgjæringsfænomener, i A og i B Undergjæring. Eftergjæringen under Lagringen fandt derimod Sted ved c. 7^{0} C. Til Lagringen blev der benyttet Pasteurske Kolber; disse bleve stærkt fyldte med vedkommende Øl. Efterat Øllet havde været lagret c. 3 Maaneder blev det aftappet paa steriliserede, tohalsede Kolber, som derpaa bleve henstillede i et Skab ved almindelig Stuevarme. Det viste sig da, at Øllet fra B og C blev aldeles gjærtykt efter mindre end 8 Døgns Henstand, medens A endnu efter 14 Døgns Forløb intet fejlede i den Retning. Heraf fremgik altsaa, at den ene af de tre Gjærarter i det syge Øl, nemlig Sacch. cerevisiæ, gav et holdbart Produkt, naar den var ene tilstede i den gjærende Vædske, men at Sygdommen derimod indtraadte, saasnart en af de to andre Arter, ligemeget hvilken, blev blandet sammen med den i det nævnte Forhold. Dette er tillige et Exempel paa, hvilke

Resultater, der kan opnaas, naar de foran beskrevne Methoder anvendes.

Da Gjæringen foregaar meget langsomt i de Pasteurske Kolber, blev Forsøget gjentaget ved Hjælp af Cylinderglas, der bleve overbundne med flammerenset Filtrerpapir. Herved fik Forholdene ogsaa større Lighed med dem, der findes i Bryggerierne. Der blev anvendt 6 Glas i alt, og ligesom tidligere vare de to mærkede A, de to B og de sidste to C. Hvert indeholdt 1300 Kub.-Cent. af samme steriliserede Urt. Til hvert af Glassene, mærkede A, blev der sat $2^1/_2$ Kub.-Cent. af den nævnte Sacch. cerevisiæ; af samme Gjær blev der sat 2 Kub.-Cent. til hvert af Glassene, mærkede B og C, og desuden til B $^1/_2$ Kub.-Cent. Gjær af Sacch. ellipsoideus II og til C $^1/_2$ Kub.-Cent. Gjær af Sacch. Pastorianus III.

Saavel i dette som overhovedet i alle de Forsøg, der udførtes, blev der sørget for, at A, B og C kom til at stemme nøjagtigt overens i alle Forhold, med Undtagelse af den forskjellige Gjærtilsætning, om hvis Indvirkning Spørgsmaalet jo drejede sig. Hovedgjæringen varede 9 Døgn; Temperaturen i Værelset var 14—15° C.; C viste svage Overgjæringsfænomener, de andre Undergjæring. Øllet blev derpaa heldt over paa Flasker, der vare lukkede med Kautschukpropper, i hvilke der fandtes et langs Flaskens Ydervæg nedadbøjet Glasrør. Hensigten med dette var at give den under Eftergjæringen dannede Kulsyre en Vej, ad hvilken den kunde slippe ud, uden at man samtidig udsatte Vædsken for at blive angreben af Mikroorganismer udenfra. Lagringen fandt Sted i 2 Maaneder ved 6—7° C. Efter den Tids Forløb blev Vædsken aftappet paa almindelige Ølflasker af farveløst Glas. De vare i Forvejen steriliserede.

Øllet var i alle Tilfælde klart, og det var ikke muligt med det blotte Øje at iagttage Gjær deri; men allerede efter et Døgns Henstand ved almindelig Stuevarme viste Øllet af B og C en begyndende Gjærtykhed. Denne tiltog Dag for Dag, og efter 12 Døgns Forløb vare alle Flaskerne med Øllet fra B og C aldeles plumrede. Endnu efter 15 Døgns Henstand var Øllet fra A derimod klart, uden nogen Gjærtykhed.

Lignende Resultater erholdt jeg, da jeg gjentog Forsøgene med den Forandring, at jeg i Stedet for den omtalte Sacch. cerevisiæ, som jeg havde udskilt af det syge Øl, anvendte en Renkultur af Sacch. cerevisiæ, Undergjærform fra Gl. Carlsberg Bryggeri.

Efterat Experimenterne saaledes havde vist, at Sygdommen optræder, naar der ved Hovedgjæringens Begyndelse findes en vis Gjærmængde af en af de to Arter i Paasætningsgjæren, blev det

næste Spørgsmaal stillet, nemlig hvorledes de samme Sygdomsfermenter vilde forholde sig, naar de først bleve indførte i Øllet efter Hovedgjæringens Slutning, altsaa paa det Stadium, da Lagringen begynder.

I den Hensigt blev der ved Hjælp af de Pasteurske Kolber udført nogle lignende Forsøg som de foran beskrevne. I den ene Række blev Infektionen med de to vilde Gjærarter foretaget ved Hovedgjæringens Begyndelse, og i den tilsvarende anden Række først ved Hovedgjæringens Slutning. Efter Lagringen var Øllet i begge Rækkerne uden noget Spor af Gjærtykhed. I den første Række traadte den derimod frem hos det med Sygdomsorganismerne inficerede Øl, da det havde staaet aftappet nogle faa Dage i Værelset; men det Øl, hvori kun fandtes Sacch. cerevisiæ, blev ligesom tidligere ikke angrebet af Sygdommen, og dette gjaldt ogsaa om alt Øllet fra anden Forsøgsrække.

Disse Forsøg gave os altsaa den interessante Oplysning, at de to Sygdomsfermenter ikke kunne fremkalde Sygdommen, naar de først tilsættes Øllet efter Hovedgjæringens Slutning.

Man kunde maaske heraf fristes til at tro, at det altsaa egentlig er overflødigt at anvende saa Meget paa Lagerfadenes Rensning og Begning som hidtil. Jeg maa da erindre om, at ovenstaaende Resultat kun gjælder for de to Gjærarter, hvormed der blev experimenteret. Foruden disse kan der imidlertid, som mine tidligere Undersøgelser have vist, i Lagerfadene optræde forskjellige andre Mikroorganismer, der ere i Stand til at fremkalde ligesaa alvorlige Sygdomme i Øllet som den beskrevne.

For at prøve ovenstaaende Resultat umiddelbart i den praktiske Drift, gjentog jeg det netop beskrevne Forsøg saavel med Lagerøl som med Exportøl fra Bryggeriet Gl. Carlsberg's Gjæringskjælder paa det Stadium, da dets Hovedgjæring var afsluttet, og det altsaa skulde føres i Lagerkjælderen. Af hver Ølsort blev der fyldt 3 Foustager, A, B, C, hver paa $16^1/_2$ Liter; B blev derpaa inficeret med 10 Kub.-Cent. temmelig tykflydende Gjær af Sacch. ellipsoideus II og C med 10 Kub.-Cent. ligeledes temmelig tykflydende Gjær, men af Sacch. Pastorianus III; de med A mærkede Foustager bleve derimod ikke inficerede. Gjæren af Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III var avlet i Kulturer med Urt ved samme Temperatur som de i Øllet værende Celler af Sacch. cerevisiæ. Da Forsøget saaledes var sat i Gang, bleve alle 6 Foustager lagte ned i Bryggeriets Lagerkjælder og her lagrede paa sædvanlig Vis i henved $2^1/_2$ Maaned, altsaa en

forholdsvis meget kort Lagringstid for Exportøllets Vedkommende. Temperaturen i Lagerkjælderen var c. 2⁰ C.

Da Øllet efter den Tids Forløb blev aftappet paa vel rensede Flasker, var det dog klart og uden mindste Tegn til Gjærtykhed som det Øl, der gaar i Handelen. Dette gjaldt om alle Foustager, A, B og C. Endnu efter 12 Døgns Henstand ved almindelig Stuevarme viste ingen af Flaskerne Tegn til Sygdom. Det stærkt inficerede Øl holdt sig, kort sagt, ligesaa godt som det ikke inficerede. Resultatet blev altsaa det selvsamme som ved Forsøgene med de smaa Maal i Laboratoriet.

Ved saadanne Undersøgelser som de foreliggende, hvis Øjemed er at gribe direkte ind i Praxis, er det naturligvis ønskeligt, saa vidt som muligt, at indrette Experimenterne efter de Forhold, der findes i den praktiske Drift selv. Dette frembød ikke nogen Vanskelighed med Hensyn til det nærmestforegaaende Spørgsmaal. Hvad derimod det først undersøgte Spørgsmaal om Betydningen af Infektionen, naar den foretages ved Hovedgjæringens Begyndelse, angaar, da maatte Sagen naturligvis stille sig anderledes. Der kunde her selvfølgelig ikke, i hvor ønskeligt det end var, være Tale om at foretage Experimenterne i selve Bryggeriet; thi dette vilde efter al Sandsynlighed temmelig hurtigt have bragt Sygdommen ind i alle Gjæringskjælderne og saaledes fremkaldt stor Forstyrrelse og store Tab. For dog at komme Forholdene i Bryggerierne saa nær som muligt, besluttede jeg at gjentage Forsøgene, der, som foran beskrevet, vare udførte i Laboratoriet i det Smaa, med større Maal og saaledes, at det gjærede Øl kunde lagres i Foustager i Bryggeriets Lagerkjælder. Ved disse nye Forsøg havde jeg desuden til Hensigt at tilvejebringe Oplysninger om, hvor store Mængder af Sygdomsgjær, der maa være tilstede i Paasætningsgjæren, hvis Sygdommen skal kunne træde frem, og endelig hvilken Indflydelse en ringere eller stærkere Attenuation i Hovedgjæringen samt en kortere eller længere Lagringstid maatte udøve.

Nedenstaaende meddeles et Exempel paa de med disse Spørgsmaal for Øje udførte Forsøg:

I en Afdeling af Carlsberg Laboratorium findes opstillet to Pasteurske Gjæringskar, A og B (en i nogle Retninger forbedret Kopi af det i Études sur la bière p. 328 beskrevne Kar); de ere begge af samme Størrelse og overhovedet ens. Temperaturen var i dette Lokale i Januar 7—10⁰ C. I hvert af Karrene blev der anbragt 165 Liter luftet Urt (13,5 % Ball.), som den i Bryggeriet benyttes til almindeligt Lagerøl. Til Karret A blev der sat 660 Gr. tykflydende Gjær af Sacch. cerevisiæ (Undergjærform fra Bryggeriet)

og til det andet Kar, B, 644 Gr. af den samme Gjær og desuden 16 Gr. tykflydende Gjær af Sacch. ellipsoideus II. Sidstnævnte Gjær var avlet ved samme Temperatur som den anvendte Sacch. cerevisiæ; begge Arters Celler vare unge og kraftige. Mængden af den tilsatte Gjær var i Forhold til Urtens Mængde den samme, som der anvendes i Bryggeriet. Urtens Temperatur, da Gjæren blev sat til, var 7° C. Vedtagningen fandt Sted i begge Karrene efter omtrent et Døgns Forløb. I Løbet af Hovedgjæringen steg Temperaturen i begge Karrene indtil 10° C.

Efter 8 Døgns Henstand var Extraktmængden i A 7,6, i B 7,5 % Ball. De to Ølsorters Udseende og Smag var ens. Fra hvert af Karrene blev en Foustage paa 66 Liter fyldt med vedkommende Øl og derpaa lagt ned i Lagerkjælderen; dennes Temperatur var 2° C.

Den øvrige Del af Øllet i de to Kar blev derpaa overladt til en fortsat Gjæring. Efterat denne ialt havde varet 10 Døgn, var Extraktmængden saavel i A som i B 6,7 % Ball. Øllets Udseende og Smag var den samme som for to Døgn siden; det blev aftappet paa 4 mindre Foustager, nemlig to fra hvert Kar, og derpaa ligesom de første Portioner bragt ned i Lagerkjælderen.

Øllet i de to store Foustager, hvis Extraktmængde ved Lagringens Begyndelse var 7,5 % Ball., indeholdt efter 2¹/₃ Maaneds Forløb 6 % saavel i A som i B. Det blev aftappet paa rene klare Flasker af farveløst Glas, som derpaa bleve stillede ind i et Skab i Mørke i Laboratoriet, altsaa udsatte for almindelig Stuevarme. Strax efter Aftapningen vare ligesom tidligere begge Ølsorter uden Spor af Gjærtykhed, men allerede efter 1 Døgns Henstand kunde man ved opmærksom Betragtning skimte en begyndende Gjærtykhed i B. Efter 5 Døgns Henstand var sidstnævnte tydelig gjærtyk, A derimod ikke.

De 4 mindre Foustager, hvis Extraktmængde var 6,7 %, da de bleve bragte ned i Lagerkjælderen, indeholdt efter 3 Maaneders Forløb 5,9 %. Øllet af A og B saa ud til at være ens; det var klart og uden kjendelig Gjærindblanding. Fra to af Foustagerne blev det ligesom i det foregaaende Tilfælde aftappet paa Flasker og disse henstillede i det omtalte Skab. Sygdommen viste sig ikke. Endnu efter 12 Døgns Henstand var Øllet saavel af B som af A klart og uden nogen Gjærtykhed.

De tilbageblevne to Foustager bleve liggende ¹/₂ Maaned længere; deres Lagringstid strakte sig altsaa over 3¹/₂ Maaned. Analysen med Saccharometeret angav samme Extraktmængde som hos de to foregaaende Foustager. Resultatet blev ogsaa i alt

Væsentligt det Samme: Efter 16 Døgns Forløb viste der sig endnu intet Spor af Sygdommen. Øllet var, som man kunde vente, paa Grund af den længere Lagring, blankere end i de foregaaende Tilfælde.

Denne Forsøgsrække lærer os, at Sygdommen endnu kan indtræde, naar Sacch. ellipsoideus II udgjør 1/41 af Paasætningsgjæren, dog kun hvis Øllet føres i Lagerkjælderen med en Extraktmængde af mindst 7,5 % Ball., og hvis Lagringen under disse Forhold afbrydes allerede efter 2 1/3 Maaneds Forløb. Fortsættes derimod Gjæringen i Gjæringskjælderen, saa at Extraktmængden indskrænkes til 6,7 %, og lagrer man dette Øl mindst i 3 Maaneder (altsaa normal Fremgangsmaade), vil Sygdommen ikke vise sig.

Det maa derfor tilraades saadanne Bryggerier, i hvilke denne Sygdom har sneget sig ind, at sørge for en tilstrækkelig stærk Attenuation i Hovedgjæringen og en ikke for kort Lagringstid (for almindeligt Lagerøl mindst 3 Maaneder). Indeholder Paasætningsgjæren derimod en betydelig Mængde af Sygdomsgjæren, vil dette dog ikke være tilstrækkeligt.

Det beskrevne Forsøg blev gjentaget, men med den Forandring, at der til Paasætningsgjæren til Karret B var sat 1/41 af Sacch. Pastorianus III i Stedet for af Sacch. ellipsoideus II. Hovedresultatet blev det samme, dog syntes saavel i dette som ogsaa i nogle af de andre Forsøg, sidstnævnte Gjærart at være den værste af de to.

Har normalt undergjæret Øl, der er brygget ved Hjælp af en Renkultur af Sacch. cerevisiæ, staaet aftappet paa Flasker i længere Tid ved almindelig Stuevarme, saa vil det som Regel danne et temmelig betydeligt Gjærbundfald, men ved Rystning bliver Vædsken dog ikke uigjennemsigtig og plumret. Gjærlaget sønderdeles nemlig i smaa Klumper og Brokker, uden at de enkelte Celler i nogen kjendelig Grad skilles ad og flyde ud i Vædsken, og hurtigt synke atter alle disse Smaadele til Bunds. Paa anden Maade forholder derimod det Bundfald sig, som det foran beskrevne syge Øl hurtigt danner. Det ligger nemlig ikke fast, men ved en ringe Bevægelse i Vædsken stiger der ligesom en hel Sky af enkelte Celler op. Er Øllet i højere Grad angrebet, og man ryster stærkt, saa bliver Vædsken følgelig ligesom opfyldt med Mudder. Det vil sige: Der kan godt i det sunde Øl findes ligesaa stort Gjærbundfald som i det syge, uden at man dog derfor finder det udrikkeligt.

Har et Bryggeri, som har lidt af dette Onde, igjen faaet sin Drift i god Gang ved Hjælp af en fuldstændig Udrensning i Gjæringskjælderne og ved derefter at indføre god Gjær, saa maa det nøje vaage over, at Sygdommen ikke atter føres tilbage fra Bærmen i Lagerfadene.

I flere Bryggerier ser man, at der slet ingen Hensyn tages i den Retning. Bærmen spildes i Gaarden og bringes direkte ned i Gjæringskjælderne navnlig med Folkenes Fodtøj, eller den tørrer ind derude til Støv og føres som saadan af Vinden op paa Svalebakkerne. Herfra naa da en Del af Sygdoms-Organismerne ned i Gjæringskarrene, hvor de begynde at udvikle sig. I Begyndelsen gaar det vel meget langsomt, saa slet ingen Fare mærkes, men efterhaanden ophobes der flere og flere Celler, og tilsidst findes der saa megen vild Gjær i Paasætningsgjæren, at Sygdommen kan bryde frem. Fra det Øjeblik tager Udviklingen fat med rivende Fart, og snart vil Bryggeriets hele Ølforraad paany være angrebet. Det er saadanne Tilfælde, der bevirke, at man i Bryggeriverdenen ofte kan høre Sygdommen omtalt næsten som noget Mystisk: »Kommer den, saa maa man bøje sig derfor, og det nytter egentlig ikke at stride derimod, det er et Uheld, som ingen kan værge sig for«. Der skiftes da Gjær, og hjælper den nye Gjær fra Bryggeriet A ikke, saa søger man til B o. s. v. Men at Kampen maa tages op i selve Driften, tænker sjeldent Nogen paa.

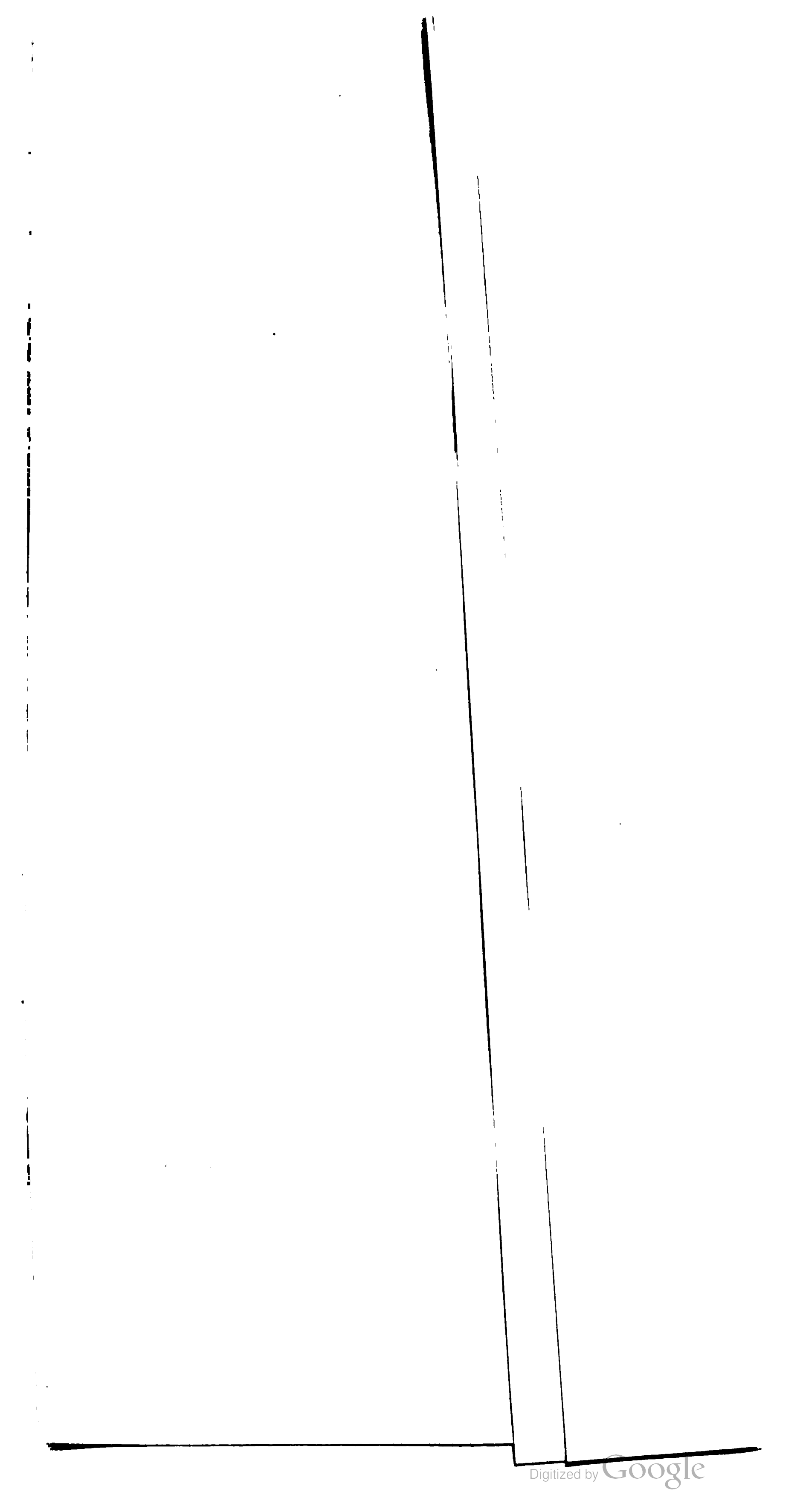
Ogsaa andre Arter end Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II kunne sandsynligvis fremkalde Gjærtykhed i Øl. Jeg har allerede i nærværende Tidsskrifts I B. 4 Hefte, p. 413, udtalt den Formodning, at dette f. Ex. vistnok gjælder om den der omhandlede Art af Gruppen Pastorianus. Her kan det være passende at minde om, at Gjærtykheds-Fænomenet optræder under flere Former. Der indbefattes herunder en hel Række forskjellige Sygdomme.

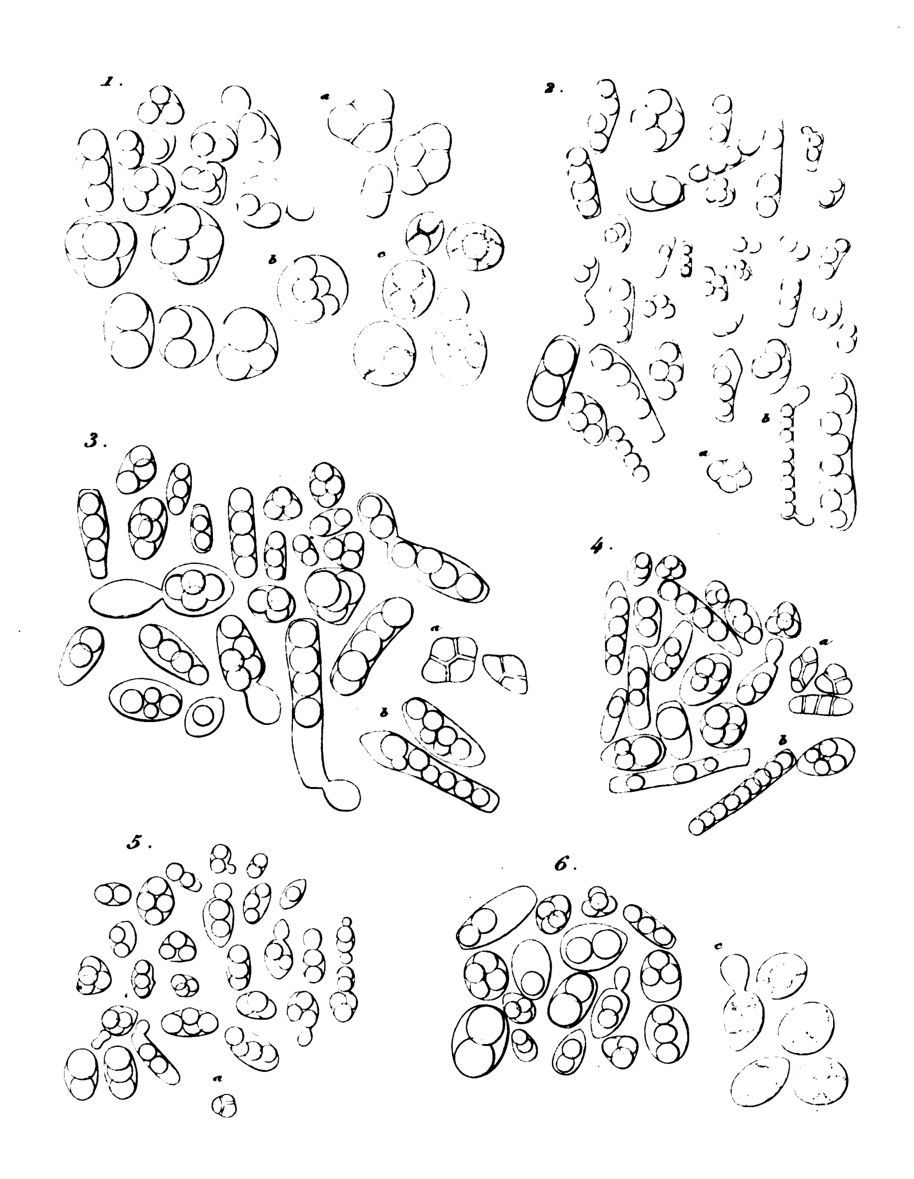
Den sidst omtalte Sacch. Pastorianus gav os ligeledes et karakteristisk Exempel paa, at visse Saccharomyces-Arter kunne frembringe Øl med en for Kjendere ubehagelig Smag.

Uklarhed i Øl skyldes langtfra altid Organismer. Temmelig almindelig er f. Ex. den Art Uklarhed, som viser sig deri, at klart Øl, naar det udsættes for en lav Temperatur, bliver opaliserende, uigjennemsigtigt og først efter at være blevet opvarmet atter faar sin Klarhed tilbage. Fænomenet forklares derved, at der i Kulden udskilles Proteïnstoffer, hvilke derpaa atter, naar vedkommende Vædske bringes ind i Varmen, opløses.

Opaliseringen kan hidrøre fra flere Aarsager. Under visse Forhold har det vist sig, at en temmelig ringe Indblanding af den foran omtalte Sacch. Pastorianus III i Paasætningsgjæren kan forhindre Øllet i at blive opaliserende. Medens saaledes Øl, der var gjæret ved Hjælp af en Renkultur af Sacch. cerevisiæ, blev stærkt opaliserende og ikke opnaaede nogen Klarhed, endog efterat det i flere Dage havde staaet ved almindelig Stuevarme, var det tilsvarende Øl, der var fremstillet paa selvsamme Maade som det netop omtalte, men kun med den Forskjel, at en lille Del af Paasætningsgjæren udgjordes af Sacch. Pastorianus III, strax efter Aftapningen i den kolde Lagerkjælder aldeles klart og vedblev at være det. Den vilde Gjærart maa altsaa under Eftergjæringen antages at have fjernet de Stoffer, der i det førstnævnte Øl bevirkede, at det blev opaliserende. Omvendt viste det sig i andre Forsøg, at to Gjærformer, som hver for sig gave klart Øl, derimod, hvis man blandede dem sammen, da frembragde opaliserende Øl. Disse og andre lignende Spørgsmaal ville efterhaanden blive underkastede en nøjere Behandling her paa Laboratoriet.

Saccharomyces-Arterne indeholde overhovedet vigtige Problemer for Gjæringsindustrien og frembyde i den Retning, idetmindste for Øjeblikket, større Interesse end Bakterierne, men hidtil har hele dette Omraade ligget som et næsten aldeles ukjendt Land.





Emil Chr. Hansen ad. nat. del.

Lövendal sc.

Om Frøhviden og dens Udvikling hos Byg.

Anatomiske Forstudier til Spørgsmaalet om melet og glasset Korn.

Af

W. Johannsen.

De her meddelte Studier danne en Art Indledning til de Byg-undersøgelser, som det, kort efter min Ansættelse som Assistent ved Carlsberg Laboratoriets kemiske Afdeling, overdroges mig at udføre.

Hovedopgaven, at udfinde Aarsagerne til, at Korn snart blive »melede«, snart »glassede«, for derved at nærme sig »Melbyg-spørgsmaalets« praktiske Løsning, er endnu langt fra at være besvaret, medens de mikroskopiske Undersøgelser have naaet en vis Afslutning. Derfor meddeles disse for sig, saa meget mere, som mit Arbejde ved Laboratoriet vil blive afbrudt i et Aars Tid paa Grund af en Udenlandsrejse.

Ved Offentliggjørelsen af denne første Meddelelse maa jeg bringe den varmeste Tak til mine tre Lærere, Hr. Laboratorieforstander Kjeldahl, Hr. Docent R. Petersen og Hr. Professor Warming; ligesom jeg skylder Hr. Capitain, Brygger J. C. Jacobsen megen Tak for talrige Oplysninger vedrørende Bygspørgsmaalet i dets Helhed.

Hvad specielt denne Forstudie angaar, da bør jeg tilføje, at de mikroskopiske Arbejder for en stor Del ere udførte under Hr. Professor Warmings velvillige Ledelse.

November 1883.

Her tages kun Hensyn til de dyrkede Bygsorter, som i alt væsentligt vise fuldstændig indbyrdes Overensstemmelse. Hordeum

distichon er især anvendt som Undersøgelsesmateriale; Afbildningerne ere tegnede efter Præparater af denne Art, med mindre andet angives. Alle Maalangivelser gjælde ligeledes den nævnte Art.

Ved Fremstillingen af mikroskopiske Præparater af unge Korn blev næsten altid den af Strasburger angivne Fremgangmaade benyttet. Det friske Materiale (hele Ax) blev overgydt med en rigelig Mængde absolut Alkohol, hvori det henstod flere Maaneder for at hærdes. Derpaa bleve de enkelte Frugtknuder udtagne af Avnerne og lagte i en Blanding af lige Rumfang Alkohol og Glycerin; i denne Blanding forblev Materialet mindst 3 à 4 Dage, ofte meget længere, inden Snittene fremstilledes.

For at være sikker paa, at hele denne Fremgangsmaade ikke bevirkede væsentlige Forandringer i Objekternes finere Struktur, foretoges hyppigt Sammenligninger med friskt Materiale, naar saadant stod til Tjeneste. Disse Sammenligninger faldt stedse ud til Gunst for Strasburgers Fremgangsmaade, der ogsaa maa anbefales meget paa Grund af den store Lettelse, den yder ved Tilvejebringelsen af tynde, sammenhængende Snit, især naar de paagjældende Objekter anbringes mellem Stykker af Hyldemarv, og Kniven vædes med Alkohol-Glycerin.

De anvendte Reagenser ere, med mindre andet siges, tilberedte efter V. A Poulsen: Botanisk Mikrokemi, Kjøbenhavn 1880.

Byggens Frugtknude er, som de andre Græssers, énrummet, med ét Æg, som sidder umiddelbart fast paa Frugtknudens Bugside[1]) (Furesiden), der vender mod øvre Inderavne. En egentlig Ægstræng findes altsaa ikke; det siddende Æg er fæstet til Frugtknudevæggen ved en temmelig lang Tilhæftningslinie og har en lang Kjærnefod (»Chalazaegn«).

Fire Strænge gaa op igjennem Frugtknuden, én forløber i Ryggen lige overfor Bugsømmen, noget under en svag Indbugtning af Frugtknuden (sml. Tab. I, Fig. 3 a), de to andre ligge langs Frugtknudens Sider og tabe sig først oppe i Arrene (sml. Fig. 2 c. og 3 b. c.), medens den først nævnte Stræng tidligt bliver utydelig. Den fjerde Stræng, som er den kraftigste og viser tydelige Kar, løber i Bug-

[1]) Undertiden kaldes Bugsiden med Urette Rygside, f. Ex. af Holzner (Der bayrische Bierbrauer. 1876. S. 199 o. a.), der taler om »Rygsømmen« (Dorsalnath) i Stedet for »Bugsømmen«, Om denne Betegnelse se Warming: Den almindelige Botanik, Kjøbenhavn 1880. S. 195. I denne Bog, ligesom i samme Forfatters »Haandbog i den systematiske Botanik«, Kjbh. 1879, maa Betydningen af de her benyttede Betegnelser søges. Angaaende Æggets Bygning i Almindelighed o. s. v. henvises ligeledes til de to Værker.

sømmen, lige udenfor og parallelt med Æggets Tilhæftningslinie; den taber sig lidt efter lidt.

Paa Tværsnit (sml. Fig. 3 e.) ses Tilhæftningslinien som et smaacellet Parti, hvorfra de to Æghinder, Ægkjærnens Overhud, samt Frugtknudens indre Epidermis udspringe.

Hele den over Ægrummet værende Del a Frugtknuden er bladgrøntfri og besat med talrige én- og flercellede, ofte forgrenede, spidse og stive Haar, der give dette Parti et skinnende hvidt Udseende, medens den Ægrummet omgivende Del af Frugtknuden er grønlig paa Grund af et Par Lag Bladgrønt førende Celler i det indre Parenkym.

Paa begge Sider af og tæt op til Bugsømmen ere de Bladgrønt førende Celler tilstede i stort Antal; paa et Tværsnit ses derfor med svag Forstørrelse (Loupe) en mørkegraa Plet ved Bugsømmen, som dog selv er ufarvet.

Frugtknudens øverste Parti er ved en Sænkning adskilt i to Dele, den mod øvre Inderavne vendte Del er meget højere end den forreste (sml. Fig. 1) og atter (sml. Fig. 2) spaltet i en til højre og en til venstre stillet Lap, som hver især gaar ud i et kraftigt, fjerformig haaret Ar. Mellem de to først nævnte Dele eller Hovedafsnit gaar en smal, lodret Spalte eller Kanal dybt ned i Frugtknuden, næsten hen til Hulrummet, i hvilket Ægget er anbragt.

Ægget er noget S-formet krummet; naar man paa et Længde snit (Fig. 1) gaar ud fra Tilhæftningslinien, hæver det sig nemlig først, bøjer derpaa nedad, og endeligt ud imod den Kjærnefoden modsatte Side af Frugtknuden, saaledes at Kimmunden ikke vender nedad, men udad[1]).

Fra Æggets øverst liggende Punkt løbe de to Æghinder ud i en Spids, der gaar højt op i det fra Arrene kommende, ledende Cellevæv. Dette Forhold, som iagttages, naar man betragter veltrufne Længdesnit eller Rækker af saadanne, især efter Behandling med Kalilud, er, saavidt mig bekjendt, hidtil bleven overset. Hver af Æghinderne bestaar af to Lag Celler. I den omtalte Spids (sml. Fig. 11), og tillige ved Kimmunden, hvor den ydre Hinde har en stor Aabning, medens kun en fin Spalte gaar igjennem den indre[2]),

---

[1]) Sml. Payer: Organogénie de la fleur. Paris 1857. S. 703; ligeledes Hofmeister: »Neue Beiträge z. Kenntniss d. Embryoentwickelung d. Phanerogamen, II.« i Abhdl. d. k. sächs. Ges. d. Wiss., VII. Bd. S. 651.

[2]) Nörners Afbildning af Kimmunden hos Hord. vuld. (Flora 1881. Tab. I¹, Fig. 1) er ikke nøjagtig.

have begge Hinder dog flere Lag Celler. I det omtalte Topparti var det mig ikke muligt at afgjøre, hvorledes den ydre Hindes to Lag have forholdt sig; af den indre Æghinde har det yderste Cellelag ikke delt sig; derimod det indre.

Hos Rug og Hvede findes tilsvarende Forhold, dog er Toppen hos den sidste langt mindre spids, hvilket staar i Forbindelse med, at Hvedefrugtknudens øverste Parti er langt lavere end Byggens.

Den ydre Æghinde er i den udviklede Frugtknude, allerede før Bestøvningen sker, meget blød og fattig paa Indhold i de klart gjennemskinnelige, tyndvæggede Celler. Det synes, at denne Hinde tjener som ledende Væv for Støvrøret, efter at dette er traadt ind i Frugtknudens Hulhed[1]).

Fra Arrene gaa de egentlige ledende Væv, idet de nærme sig hverandre, ned gjennem det Indre af de arbærende Afsnit (sml. Fig. 2). De to Veje mødes endnu i denne bageste Del af Frugtknudens øvre Parti (sml. Fig 1) og gaa derpaa, forenede, videre ned mod Hulrummet. Kort førend dette og Æghindernes Spids naas, træder det ledende Væv ogsaa over i det forreste Afsnit. Den lodrette, fine Spalte omgives derved forneden af ledende Væv, af hvilken Grund den gjøres utydelig. Det ledende Vævs Celler ere bløde, tyndvæggede, smalle og meget langstrakte, samt ganske stivelsefri. Ved flygtig Betragtning skjule de den ydre Æghindes fine Spids.

Blomsterne hos de dyrkede Bygsorter aabnes under Bestøvningen langtfra altid hos os, maaske paa Grund af utilstrækkelig Varme i Blomstringstiden[2]). Naar det sker, da er det, i Overensstemmelse med Hackels almindelige Angivelser[3], fordi Lodiklerne, de to smaa Skæl ved Frugtknudens Grund, svulme op og presse Avnerne lidt fra hverandre. Denne Aabnen er dog i det hele sjelden[4]).

---

1) Sml. Holzner i Botan. Centralblatt, 1882 Bd. 12, S. 107.

2) Sml. Godron: De la floraison des Graminées. Memoires de la société nationale des sciences nat. de Cherbourg. T. 17 p. 178.

3) Botanische Zeitung, 1880 S. 432,

4) Naar Kudelka (Entwickelung u. Bau d. Frucht- u. Samenschale unserer Cerealien. Berlin 1875. S. 9) angiver, at der hos Byggen kun finder Selvbefrugtning Sted, og at denne foregaar i den helt lukkede Blomst, endnu inden Axet har »skredet«, da er dette ingenlunde altid Tilfældet, At Fremmedbestøvning i Virkeligheden kan finde Sted, viser den interessante Bastardform mellem Hord. trifurcat. og Hord. distichon, som Hr. P. Nielsen d. $^{21}/_{2}$ 1883 foreviste i det kgl. d. Landhusholdningsselskabs Møde.

Derimod ses oftere en anden Opspærring af Bygblomsten, især hos storavnet Byg, Hord. macrolepis (i alt Fald dens sorte Varietet). Denne sidst omtalte Opspærring foregaar imidlertid ikke i Bestøvningens Interesse, men sker først efter Befrugtningen, naar Frugtknuden begynder sin nye Væxt[1]). Lodiklerne ere nu ganske sammenfaldne, men en stærk Udvikling af Frugtknudens øverste bladgrøntfri Del (sml. Fig. 4—7) trænger Avnerne ud fra hverandre. Denne Tilstand varer i nogle Dage; først lidt efter lidt, idet Frugtknuden voxer i Højde, og det øverste Parti skrumpes noget ind, lukkes Avnerne paany.

Opsvulmningen af Frugtknudens øverste Del bevirkes neppe alene ved stærk Turgor, men, som det synes, ogsaa ved Væxt og Celleformering. Andre Græsser, saasom Rug, Marehalm, Rajgræs o. fl., vise lignende Forhold, især synes det almindeligt hos Efternølere sent paa Sommeren.

Før Befrugtningen findes i Kimsækken (Fig. 12) en Kimblære og to Synergider, temmeligt smaa og utydeligt konturerede. Centralkjærnen er meget tydelig og ligeledes Antipodecellerne, der udvikles hurtigere end Kimblære og Synergider; de findes i et Antal af mindst 6.

Efter Befrugtningen, maaske endog forinden begynde Antipodecellerne en rask Deling, Antallet af Kjærner stiger meget hurtigt; 31 bleve sikkert talte, rimeligvis findes flere. Samtidigt med Frugtknudens Tiltagen i Længde (Højde) og i Omfang, udvides Kimsækken hurtigt; den voxer i Begyndelsen noget ensidigt, idet især den mod Frugtknudens Ryg vendte Side forlænges stærkt og bøjes (Fig. 9—10). Derved forblive Antipodecellerne ikke længere i Bunden af Kimsækken, men komme til at ligge paa den ene Side af samme, ind imod Æggets Tilhæftningslinie[2]). Derpaa begynder Frøhvidedannelsen.

Trods særdeles talrige Præparationer har jeg ikke været saa heldig at træffe Centralkjærnen i Deling; der er imidlertid ingen Grund til at betvivle, at Strasburgers almindelige Angivelser og saa ville passe her (se Anm.[2])). Centralkjærnen frembringer da

---

[1]) Sml. Holzner: »Die Gerste« i »Der bayrische Bierbrauer«. 1876. S. 199, Wigand (Botanische Untersuchungen 1854) har den tilsvarende Angivelse for Rugens Vedkommende.

[2]) A. Fischer (Z Embryosackentwickelung einiger Angiospermen, Jenaische Zeitschrift f. Naturwiss. 14. Bd. 1880, S. 105, Tab. III, Fig. 22—29) har iagttaget en aldeles tilsvarende, ensidig Væxt af Kimsækken hos Erharta panicea. Sammesteds ere Centralkjærnens Delinger hos denne Art beskrevne.



ved gjentagne, hurtige Delinger en Mængde Døttrekjærner. Disse Kjærner, som stadigt ere lejrede i Protoplasma, beklæde snart som et Lag Kimsækkens indvendige Væg; kun der, hvor Antipodecellerne og Kimanlæget findes, ligger den unge Frøhvide ikke umiddelbart op til Kimsækkens Væg, hvilket ellers overalt er Tilfældet.

Frugtknuden er nu omtrent 3,5 Millimeter lang. Fig. 3 viser et omtrent over Midten af Hulrummet lagt Tværsnit af Frugtknuden i dette Stadium, Fig. 8 et Brudstykke heraf ved stærkere Forstørrelse. Frugtknudevæggen[1]) bestaar her af følgende Cellelag: Overhud; farveløst Parenkym, som indeholder smaa Stivelsekorn; to (hist og her, især i Furens Nærhed, flere) Lag Bladgrønt førende, paa tværs strakte Celler; og endeligt den indre Epidermis. Derpaa følger den ydre Æghinde, som nu er sammenfalden og tildels forsvunden. Fig. 3 viser, at den holder sig længst paa Kornets Bugside. Den indre Æghinde har derimod endnu rigeligt protoplasmatisk Indhold og forholdsvis store, runde Cellekjærner i begge sine Lag, ligesom den umiddelbart indenfor værende Ægkjærnes Overhud. Indenfor denne sidste ses nogle sammenfaldne Celler, Resten af Ægkjærnen, som nu for største Delen er fortrængt af den mægtigt voxende Kimsæk. Dennes Væg træder ikke tydeligt frem imod det Lag af Protoplasma, hvori den unge Frøhvides Cellekjærner ere lejrede. — Alle Dele af Ægget, inclusive dets Hinder og Tilhæftningsstedet, ere fuldstændigt stivelsefri og ufarvede.

Et tilsvarende Længdesnit vil give et noget andet Billede af de enkelte Cellelag. De farveløse Parenkymceller vise sig da med temmelig rette Vægge; de ere stillede i Længderækker og noget strakte efter Frugtknudens Længderetning. De Bladgrønt førende Celler vise sig derimod næsten kredsrunde. Der er ikke stor Forskjel mellem Længdesnit og Tværsnit af de øvrige Cellelag, der som Regel ere noget strakte i Retning af Frugtknudens Længdeaxe. Frøhvidens Kjærner frembyde samme Billede paa Længde- som paa Tværsnit.

I »Skallen« er der siden Befrugtningen sket nogle Forandringer ved den Væxt, som hele Frugtknuden har undergaaet. Parenkymcellerne ere i det afbildede Stadium blevne betydeligt større end

[1]) Sml. herom Kudelkas alt anførte Afhandling, samt Grønlund: Om Maltbyg og Glasbyg. Kjbh. 1879, S. 29—32. Hr. Laboratoriebestyrer Grønlund har med særdeles Imødekommen tilladt mig at gjennemgaa hans udførligere, utrykte Angivelser og Afbildninger, der særligt gjælde »Skallens« Udvikling. Jeg maa her udtale min Tak for denne Velvillie. Med Hensyn til Skallen er der i alt væsentligt fuldstændig Overensstemmelse mellem Hr. G.'s og mine Iagttagelser.

de vare før Befrugtningen; de ere løsnede lidt i deres indbyrdes Sammenhæng. Ogsaa de Bladgrønt førende Celler ere nu større end tidligere. Den ydre Æghinde er meget mere sammenfalden, Karstrængen i Bugsømmen kraftigere end før Befrugtningen.

Naar man ved et Snit aabner Frugtknuden, kan man let, ved Hjælp af Naalen, i en Draabe Glycerin udpræparere et Stykke af Kimsækkens Belægning (Fig. 16). Man vil da finde, at Cellekjærnerne aftage i Størrelse, jo nærmere de ere Antipodecellerne. Dette viser, at Kjærnedelingen i de nærmest Antipodecellerne liggende Egne af Frøhviden er videst fremskreden. I Overensstemmelse hermed dannes Cellevæggene ogsaa tidligst i Antipodernes Nærhed, altsaa ud for Furen. At dette staar i Forbindelse med en særlig rigelig Ernæring, er vel sandsynligt; det maa ogsaa erindres, at Antipoderne, som ere meget protoplasmarige, efterhaanden svinde hen.

Idet den unge Frøhvide udvikles videre, fortrænges Ægkjærnen mere og mere. Frugtknuden voxer tillige, især i Længden (Højden)[1]; Cellerne, undtagen de Bladgrønt førende, strækkes meget betydeligt i denne Retning. Ved Hjælp af Naalen kan man let udbrede hele Flager af Frøhviden i en Draabe Glycerin, og saaledes iagttage de forskjellige Stadier af Vægdannelsen, som stemme nøjagtigt med Strasburgers almindelige Angivelser.

Naar der er dannet Vægge, begynde de unge Frøhvide-Celler at strække sig radialt ind imod Kimsækkens Hulhed. Fig. 13 viser et Tværsnit af Frøhviden i det omtrent 4,5 Millimeter lange Korn; Fig. 15 et Længdesnit af hele Frugten ved svag Forstørrelse. Det sés, at Frøhviden er fremmeligst i sin Udvikling ved Fureegnen, hvor den er i umiddelbar Berøring med de nu halvt resorberede, paa Figuren ikke angivne Antipodeceller.

Fig. 14 viser en Del af Fig. 13 ved stærkere Forstørrelse. Væggene ere meget tynde og ligesom noget krøllede (rimeligvis skyldes dette Alkoholens Indvirkning), Kjærnerne have ejendommelige langstrakte Former, tydende paa en forestaaende Deling. Fig. 17 viser forskjellige Kjærner, deriblandt nogle i Delingens senere Stadier. Forbindelsestraadene mellem de nydannede Døttrekjærner danne ikke her den almindelige, tøndelignende Figur[2]), men løbe i

---

[1]) Holzner (»Die Gerste ...« S. 200) har flere Maalangivelser fra forskjellige Udviklingsstadier, som bekræfte dette.

[2]) Sml. Afbildningerne i Strasburger: Zellbildung und Zelltheilung. 3. Aufl. 1880, eller f. Ex. Fig. 9 G. H. i Warming: Den almindelige Botanik. 1880. S. 9.



Nærheden af Kjærnerne nær ved og parallelt med hverandre (sml. *e*, *f* og *g*). — Samtidigt med at Frugtknuden stadig fortsætter sin Længdevæxt, kun tagende lidet til i Omfang, fyldes Kimsækken helt med Frøhvideceller, idet disse dele sig og ved deres Væxt udfylde Hulrummet. Idet Frøhvidereller fra modsatte Sider støde sammen i Kimsækkens Midte, danne de en tydelig Sammenvoxningslinie (sml. Tab. II, Fig. 1). Fureegnen er stadig videst fremme; allerede nu (Kornets Længde omtrent 5 à 5,5 Mm.) har Frøhvidens yderste Cellelag her differentieret sig, er overfyldt med Proteinstof og viser kun utydeligt Protoplasmastrænge. Tab. II, Fig. 2 viser et Par Celler fra Kornets Rygside. Kjærnerne ere ophængte i tydelige Plasmastrænge; Væggene synes mere faste end i det tidligere omtalte Stadium. Stivelse findes der ikke Spor af endnu. Nogle Delinger, som synes at ske samtidigt eller næsten samtidigt over hele Frøhviden, foregaa endnu, derpaa begynder Stivelsen at dannes.

Kornet har da naaet en Længde af 6 à 7 Mm. og er begyndt at voxe stærkere i Omfang end tidligere. Fig. 3 viser et svagt forstørret Tværsnit af et saadant Korns Frøhvide. »Sammenvoxningslinien« er endnu tydelig, senere kan den ikke mere paavises. Fig. 4 gjengiver et Længdesnit, meget svag Forstørrelse. Stivelsekornene findes tidligst i de øvre Dele af Frøhviden, dog ikke helt oppe i Spidsen af Kornet. Tværsnittet, Fig. 3, der er lagt noget over Kornets Midte, viser, hvor Stivelsekornene først kunne paavises, nemlig omkring Sammenvoxningslinien i Midten af Kornets to Længdehalvdele (Fløje) og i to henad Furen liggende Partier. I hele Frøhvidens yderste Lag Celler findes aldrig Stivelse, derimod findes allerede paa dette Stadium noget Fedt, foruden det rigelige, svagt grynede, protoplasmatiske Indhold.

Fig. 5 viser en Del af Fig. 3 i stærkere Forstørrelse. Af det yderste, indholdsrige Lag fremgaa senere de tykvæggede, i tre Rækker stillede, stivelsefri Celler. I Cellerne nær Sammenvoxningslinien, som begrænser Fig. 5 forneden, sés fine Gryn i Protoplasmaet omkring Kjærnen og i de nærmest denne værende Dele af Plasmastrængene. Ved Jod[1]) farves de svagt og utydeligt. Anvendes derimod Klorzinkjod, da bolne de smaa Korn ud og farves

[1]) Den anvendte Jodopløsning fremstilles saaledes: Til 1 Del Jod, opløst i 20 Dele Alkohol, sættes 80 Dele Vand. Efter 1/2 Times Henstand filtreres Vædsken fra det udskilte Jod. En saadan svag Jodopløsning er det i mange Tilfælde mere tilraadeligt at anvende, end stærkere Opløsninger; Farvningen sker langt mere jævnt og smukt.

stærkt brunsorte. Fig. 6 fremstiller nogle Celler, udpræparerede med Naalen og behandlede med Klorzinkjod; Væggene ere derved løsnede noget fra hverandre.

Umiddelbart førend Stivelsen saaledes kan paavises ved Klorzinkjod eller Kali og Jod, er Protoplasmaet omkring Cellekjærnen fint grynet; man har maaske her de Schimperske »Stivelsedannere« i en meget ufuldkommen Skikkelse. Paa det tilsvarende Stadium af Havrens Udvikling saas i frisk Materiale smaa runde Legemer, der farvedes brune ved Jod, og hvori Stivelse snart efter kunde paavises som smaa fra hverandre adskilte Korn, der vel senere maa voxe sammen for at danne Havrens sammensatte Stivelsekorn. I Alkoholmateriale har jeg dog ikke siden kunnet gjenfinde disse Legemer.

Efter at Stivelsen først er begyndt at dannes i Frøhvidecellerne synes disse ikke at dele sig mere. I alt Fald saas ikke Stivelsekorn i nogen i Deling værende Celle. Derimod foregaa Delinger i de endnu stivelsefri Partier af Frøhviden, især i Omkredsen, hvor de karakteristiske, Fedt og Proteinstoffer førende Celler snart differentiere sig.

Tab. III, Fig. 7, b viser et Tværsnit af et omtrent 8,5 Mm. langt Korn. Til Sammenligning med Fig. 7, a ses, at Kornet nu ogsaa er tiltaget meget i Omfang. Tab. II, Fig. 8 viser en Del af et lignende Præparat i stærkere Forstørrelse. Det sés straks, at det yderste Cellelag ved radiale og tangentiale Vægge er delt i mindre, stærkt fyldte Celler, uden kjendelige Plasmastrænge og med et grynet Indhold. Disse ere de saakaldte »Glutenceller« i endnu ufuldkommen Udvikling. Tab. II, Fig. 10 viser de samme Celler, saaledes som de præsentere sig ved tangentiale Snit. Paa den Led ligge de meget uregelmæssigt, medens de paa Tværsnit, men dog især paa Længdesnit, frembyde en mere regelmæssig Ordning. De føre nu en betydelig Mængde Proteinstof og Fedt; tydeligt begrænsede Proteinkorn kunne dog endnu ikke paavises i det grynede Indhold.

Indenfor disse Celler følge de Stivelse førende. Stivelsekornene ere ældst og størst i Cellerne henimod Kornets Indre, yngst og mindst nær Omkredsen. De er aflange, noget uregelmæssigt formede, medens den helt udviklede Frøhvides Stivelsekorn ere temmelig regelmæssigt linseformede. De mange smaa Korn, som i den færdige Frøhvide findes mellem de store Stivelsekorn, især i de indre Celler, ere endnu ikke opstaaede. Cellekjærnerne ere særdeles tydelige endnu, derimod sés Plasmastrængene ikke godt. At de imidlertid ere tilstede, paavises let ved Farvningsmidler, eller

ved at fjerne Stivelsen, f. Ex. ved fortyndet Salpetersyre (10 %). Man sér da et tydeligt, om end fint Netværk. De Stivelse førende Cellers indad gaaende Vægge løbe paa Fig. 8 ikke i nøje radial Retning fra Omkredsen. Afbildningen gjengiver nemlig et Parti fra Siden af Frugtknuden, hvor de nævnte Vægge, paa Grund af Frøhvidens uensartede Væxt og deraf følgende Udbugning, ere skudte noget ud af den oprindelige Retning. Tab. II, Fig. 5, ligesom ogsaa Tab. III, Fig. 1 ere derimod tegnede efter Partier fra Kornets Rygside, hvor Cellevæggene beholde deres oprindelige, radiale Retning.

Tab. II, Fig. 9 viser et Tværsnit af Frugtknudevæggen, svarende til det nys skildrede Stadium af Frøhvidens Udvikling. Afbildningen fremstiller et Parti nær Furen; paa Ryggen ere Cellerne betydeligt mere sammentrykte. Frugtknudens Overhuds Celler ere mere tykvæggede end tidligere (sml. Tab. I, Fig. 8) og strakte meget i tangential Retning. Det farveløse Parenkym er betydeligt løsere, og Cellerne have ogsaa her forstørret sig en Del i tangential Retning under Kornets Tiltagen i Omfang. En Del af de indre Parenkymceller ere nu ganske sammentrykte; derimod ere de Bladgrønt førende Celler endnu grønne og med rigeligt Indhold; Figuren viser 3 Lag (sml. S. 108). Frugtknudens indre Epidermis samt Æggets ydre Hinde ere næsten forsvundne. Den indre Hindes to Lag Celler ere endnu meget tydelige; især det inderste Lags Celler ere meget større end tidligere. Ægkjærnen er ganske fortrængt, med Undtagelse af dens Overhud, hvis Celler ere voxede betydeligt og nu begynde at falde sammen. Desuden findes ud for Tilhæftningsstedet en lille Rest af Ægkjærnen. Umiddelbart indenfor Ægkjærnens Overhud ligge Frøhvidens stivelsefri Celler.

Ved Længdesnit iagttages, at samtlige Celler i Frugtknudevæggen og »Frøskallen« — med Undtagelse af de grønne — ere strakte overmaade stærkt i Retning af Frugtens Længdeaxe. I det farveløse Parenkym ligge Stivelsekornene samlede i den nederste Ende af Cellerne. De Bladgrønt førende Celler vise knap nogen Forøgelse i Diameter og ere kun hist og her løsnede lidt fra hverandre, af hvilken Grund jeg formoder, at de have delt sig. Dog iagttoges Deling ikke. Paa Grund af de talrige Parenkymcellers Forsvinden og de tilbage blivendes større Klarhed, viser hele Frugten sig langt stærkere grøn end i Begyndelsen af Udviklingen[1]). Avnerne ere nu begyndte at voxe sammen med selve Frugten.

---

[1]) Sml. hermed Nowackis Angivelser om Hveden. (Untersuchungen über das Reifen des Getreides. 1870. S. 23.)

Tab. II, Fig. 7 viser et svagt forstørret Længdesnit af hele Kornet, svarende nærmest til Fig. 8—10 og Tab. III, Fig. 7 b. Frugtknuden har dannet en lille nedad gaaende Udposning, hvori Kimens Rodende ligger. Kimen mangler meget i at være udviklet og skal endnu fortrænge en stor Del af Frøhviden. Dennes nederste, nærmest Kimmunden liggende Cellelag have under hele Udviklingen været stivelsefri. Disse Celler ere dog nu for længst fortrængte; de 3 à 4 Lag temmelig tømte, stivelsefri Celler, som nu ligge nærmest Kimen og ere begyndte at falde sammen, have tidligere indeholdt Stivelsekorn, ligesom de tilstødende, Stivelse førende Celler have haft større Rigdom paa dette Stof end nu.

Efter det beskrevne Stadium, i hvilket hele Kornet indeholder omtrent 70 % Vand og viser Frøhinden som en mælket, tykflydende Slim, foregaar vel endnu nogen Længdevæxt, men Kornet tiltager navnlig i Omfang, især paa Midten. Paa Grund af Furepartiets mindre energiske Væxt[1]) formes Frøhinden saaledes, at dens Tværsnit minder noget om en Hestesko. Ved den videre Tykkelsevæxt forandres efterhaanden Hesteskoformen til Nyreform (sml. Tab. III, Fig. 7 a—g).

Frøhvidecellernes Væxt foregaar samtidigt med og nøje knyttet til den fortsatte Udfyldning med Oplagsnæring, hvorved de paagjældende Celler udvides betydeligt. At der ved de yderste, stivelsefri Cellers Delinger, som ej vare afsluttede paa det sidst skildrede Stadium (Tab. II, Fig. 8), fremgaar andet end samme Slags Celler, synes usandsynligt. Maaske dannes dog nu og da et Lag smaa, tykvæggede Celler, rige paa Proteinstof, fedtfri og med faa og temmelig smaa Stivelsekorn.

Naar Kornet er omtrent 9 Mm. højt, indeholder c. 52 % Van og paa Tværsnit viser sig som Fig. 7 e Tab. III, er Bladgrøntet i de paagjældende Celler af Frugtknudevæggen begyndt at forandres. Cellerne have et mere gulligt Indhold, undtagen paa begge Sider af Bugsømmen. Her holder den grønne Farve sig længst i de flere Celler mægtige Lag og bleges kun langsomt. Endnu i det ved Fig. 7 f. fremstillede Stadium, hvor Vandmængden udgjør omtrent 40 % af Kornets Vægt, sés til højre og til venstre for Bugsømmen olivengrønne Pletter.

---

[1]) Det blev allerede tidligere (S. 109 og 110) fremhævet, at Frøhviden i Bugsømmens Nærhed var videst fremme i sin Udvikling. Sandsynligvis standser af denne Grund Væxten tidligst her.

Det i anatomisk Henseende fuldt udviklede Korn har ikke længer noget Bladgrønt; Vandindholdet er da omtrent 30 à 35%, og Frøhviden har en blød, voxagtig, men noget sej Konsistens. Fig. 7 g Tab. III fremstiller et Tværsnit af et saadant Korn; Furepartiet viser sig her som en fin Linie, der gaar ind til Midten af Frøhviden. Kornets Højde er nu omtrent 9 à 9,5 Mm.[1]). Dette Stadium betegnes almindeligt ved »Gulmodenheden«[2]). Alle Blade ere visne, Straaene gule eller gulrøde, med urent olivengrønne Knæ. Straaene ere som oftest ganske tørre i den øverste, Axet nærmeste Del. Stakkene ere ligeledes gule eller gulrøde. Frugtknudevæggen er meget sammentrykt og fastvoxet til de smukt gule Avner, som ofte endnu have et rødligt Skjær.

Fra dette Stadium voxer Kornet ikke mere, men synes at være fuldt udviklet. Stofvandring til Kornet maa være ophørt, Straaenes øverste Dele ere jo tørre. Der mangler endnu kun den fornødne Indtørring og Skrumpning, samt de dermed forbundne Processer, i at Kornet er ganske »færdigt«.

Anatomisk talt, kan det derfor siges, at der ikke sker nogen videre Forandring med Kornet efter »Gulmodenheden«; hvorvidt der foregaa kemiske Forandringer i Kornet efter dette Stadium, eller hvorvidt fysiologiske Ejendommeligheder udvikles[3]), ere Spørgsmaal af meget stor Interesse. Disse Spørgsmaal maa dog her forbigaas.

Det fuldt udviklede, lufttørre Bygkorn bestaar af Kimen, Frøhviden og Skallen. Denne sidste er, som bekjendt, sammensat af Frugt- og Frøskal, samt (med Undtagelse af de »nøgne« Bygsorter) tillige af de to Inderavner, der temmelig fast hæfte til Frugter. Tab. III, Fig. 3 viser et Tværsnit af Skallen, efter Behandling med Klorzinkopløsning (c. 60%), hvorved de forskjellige Bestanddele blive noget tydeligere. Figuren svarer til Kornets Rygside. Ved Furen paa Kornets Bugside er Avnen ikke saa stærkt sammentrykt, som ellers overalt; ligeledes er den Frugtknuden tilhørende Del af Skallen her noget mindre presset og viser tydeligere de enkelte Cellelag.

---

1) Disse Maal ere kun omtrentlige Gjennemsnitstal; der findes mange modne Korn baade langt mindre og noget større. Denne Anmærkning gjælder de angivne Maal i det hele taget.

2) Sml. ogsaa Nowacki, paa det anførte Sted, S. 23.

3) Saadanne Processer menes vel med den i Praxis ofte anvendte Betegnelse »Eftermodning«.

Æggets Tilhæftningssted viser sig paa Tværsnit som et noget afrundet, mørkt brunfarvet Parti, hvor den nu alene tilbage værende indre Æghinde, ligeledes oftest brunfarvet, samt Ægkjærnens Overhud have deres Udspring (sml. S. 105). Fra Tilhæftningsstedet, der ved Længdesnit viser sig som en lang, mørk Stribe, »Pigmentstriben« (Tab. III, Fig. 2 e), udstraale ind imod Frøhviden nogle tomme, tildels sammenfaldne, strakte Celler, der ere at betragte som Rester af Ægkjærnen[1]). (Tab. III, Fig. 6 a og 6).

De to nævnte Figurer fremstille Furen eller en Del deraf, som den viser sig paa Tværsnit af det helt udviklede, »gulmodne« Korn (sml. Fig. 7 g) og af det lidt mindre udviklede, endnu grønne Korn (sml. Fig. 7 e—f). Fig. 6 viser, at der i dette sidste mellem Ægkjærnens Rest og Frøhviden er et stort Hulrum[2]), som allerede opstaar paa langt tidligere Stadier. Dette Rum er i det friske Korn saftfyldt, det synes at indeholde en noget slimet, sukkerholdig Vædske. Det ses ogsaa, at Skallen og Resten af Ægkjærnen ikke gaa med Furen dybt ind i Kornet, saaledes som det er Tilfældet hos Rug og Hvede, men holdes næsten helt udenfor. Den smalle Stribe, som ved Tværsnit af det modne Korn ses at naa omtrent til Midten af Frøhviden, er altsaa blot Grænsen mellem de to hinanden mødende Dele af Frøhvidens indbøjede Bugside[3]). Langs

---

[1]) Sml. Holzner »Die Gerste« . . p. d. a. Sted, S. 199, Anm. 1 under Texten.

[2]) Nowacki (p. d. a. Sted S. 26) siger med Hensyn til Hveden: »Ofte løses, undertiden allerede før, hyppigere dog først samtidigt »med eller endog efter Bladgrøntets Forsvinden, Tilhæftningsstedet »(N. maa hermed mene Resten af Ægkjærnen) fra Frøhviden, og »der opstaar da mellem begge et paa langs gjennem Frugten »løbende Hulrum (Nowackis Fig. 9 ved l). Da hele Frøhvidens »Ernæring maa foregaa gjennem Tilhæftningsstedet, saa vilde, »med denne Løsnen fra Frøhviden, den Bro, ad hvilken Stofferne »udenfra naa ind, være afbrudt«. Denne Slutning er dog urigtig; Nowacki synes ganske at glemme Osmosens Betydning for Stofvandringen, samt overser, at Frøhviden aldrig har staaet i organisk Forbindelse med Ægkjærnens Rest og ej heller har haft noget »Tilhæftningssted«.

[3]) Denne Angivelse staar i Strid med Kudelkas (p. d. a. Sted, S. 11): »Ved Fuldmodenheden naar et smalt Parti af Fibrovasal»strængen« (hermed menes vel: Karstræng, Tilhæftningslinie og Rest af Ægkjærnen) »indtil Midten af Kornet, og stærkt fortykkede »Glutenceller« omgive det«. — Holzner (p. d. a. Sted, S. 199) meddeler, at der ved fri Celledannelse skal opstaa nogle faa Celler i Rummet mellem Resten af Ægkjærnen og Frøhviden. Sligt har jeg aldrig set.

hele denne Grænse have de yderste Lag Frøhvideceller højst uregelmæssige, skjæve, sammentrykte Former, ere tykvæggede med kun lidet Indhold.

Kimen er i det foregaaende næsten ganske forbigaaet. De første Stadier af dens Udvikling har Nørner[1]) beskrevet for Hord. vulg's. Vedkommende og ledsaget Beskrivelsen med talrige, gode Figurer. Mine Iagttagelser over Kimen i dens forskjellige Stadier give ingen Anledning til Modsigelse, hvorfor her henvises til Nørners Afhandling, hvor videre Literatur findes angivet. Holzner (p. d. a. Sted S. 195), hvortil ligeledes henvises, skildrer kort den videre Udvikling, Dannelsen af de forskjellige Organer, og ledsager Texten med 7 skematiske Tegninger, gjengivende mediane Længdesnit af Kimen.

Naar hele Frugten endnu er ganske ung, voxer det lille Kimanlæg op i den bløde Frøhvide og omsluttes næsten ganske af denne. Idet Kimen efterhaanden under sin Væxt udsuger og fortrænger de nærmest liggende Celler (sml. S. 113), lægge disses Vægge, for saa vidt de ej blive opløste, sig tæt sammen og danne efterhaanden et temmelig tykt Lag, en Grænse mellem de Stivelse førende Frøhvideceller og Kimen. De yderste, stivelsefri Frøhvideceller gaa derimod, dog kun i et enkelt Lag, omkring den øverste Del af Kimen; de blive mindre og mindre nedefter og forsvinde tilsidst ganske. Tab. III, Fig. 2 er for lille til at dette Forhold tydeligt kan ses; hos Lintner: Lehrbuch d. Bierbrauerei, Braunschweig 1875, S. 25 & 31, findes to gode, større Afbildninger (Fig. 5 & 8), som ogsaa ere optagne i Holzners oftere anførte Afhandling (Fig. 24 & 27). Kudelka (p. d. a. Sted, S. 11) har den tilsvarende Angivelse.

Den skjoldformede Del af Kimen, som støder op til de sammenpressede, udsugede Frøhvideceller, er Kimbladet[2]). »Skjoldet« (scutellum), som under Spiringen bidrager til at opløse og opsuger Oplagsnæringen, udmærker sig ligesom hos andre Græsser ved ejendommelige, cylindriske Overhudsceller paa den mod Frøhviden vendte Side.

Af Rodanlæg findes 4—6, alle omsluttede af »Rodskeden« (coleorhiza), som ved Spiringen maa gjennembrydes. Kimknoppen er dannet af flere kræmmerhusagtigt hverandre omsluttende Blad-

---

[1]) Beitrag z. Embryoentwickelung der Gramineen. Flora. 1881, Nr. 16.

[2]) Sml. Warming: Forgreningen og Bladstillingen hos Slægten Nelumbo. »Videnskabelige Meddelelser fra Naturhistorisk Forening« for 1879 og 80. Anmærkningen under Texten S. 446—8.

anlæg. Kimen indeholder ingen Stivelse, men er derimod meget rig paa Fedt og Æggehvidestoffer.

Frøhviden indeholder som Oplagsnæring Kulhydrater, Proteinstoffer og Fedt. Af Kulhydrater kunne blot Stivelse og Cellestof findes ved mikroskopisk Undersøgelse; andre Kulhydrater[1]) forekomme dels ikke i saa stor en Mængde eller sammenhobede paa særlige Steder, at de kunne paavises mikrokemisk, dels have de ej karakteristiske Reaktioner, egnede til Udførelse under Mikroskopet.

Proteinstoffer findes over hele Frøhviden; i de Stivelse førende Celler udgjøre de Hovedmassen af det Netværk, hvori Stivelsekornene ere lejrede (se nedenfor). Dette Netværk er sværest i Cellerne henad Frøhvidens Omkreds og i dens øverste Del, betydelig tyndere i Cellerne dybere inde i Kornet. Deraf tør man slutte, at Proteinstofferne i det hele taget findes i størst Mængde i Frøhvidens øverste og perifere Celler.

Fedt findes i væsentlig Mængde kun i de tre yderste Lag Frøhvideceller, der ogsaa have stærkt fortykkede Vægge, hvis Cellestof for største Delen opløses under Spiringen, altsaa rimeligvis tjener som Oplagsnæring. De Fedt førende Celler indeholde ikke Stivelsekorn, hvilke derimod findes i alle øvrige Frøhvideceller.

Tab. III, Fig. 1 viser et Stykke af Frøhviden, et Tværsnit fra Kornets Rygside, lige over for Furen. Det tilsvarende Præparat blev fremstillet af et fast og haardt (»glasset«) Korn i tør Tilstand. Snittet lagdes i en tyndflydende Opløsning af Kanada-Balsam i Kloroform og er derfor kun udbolnet i ringe Grad. Cellevæggene vise sig af denne Grund temmelig tynde og ere noget forskrumpede; det hele Udseende svarer nogenlunde til den lufttørre Frøhvides Tilstand. Cellernes radiale Ordning træder tydeligt frem paa den afhildede Del af Kornet; som allerede ovenfor meddelt, blive Cellerne paa de fleste andre Steder trængte ud af deres oprindelige Retning. Længdesnit vise derimod næsten overalt meget smukt Frøhvidens radiale Struktur.

Øverst i Fig. 1 (o) ses de stivelsefri Celler; i en enkelt er der, foruden Cellekjærnen, indtegnet smaa runde Legemer, Proteinkorn. Disse Celler ere de saakaldte »Glutenceller«. Denne Betegnelse er urigtig og vildledende; thi »Gluten« findes ikke her. »Gluten« er et Produkt, som kun fremstilles af Hvedens Mel, i

[1]) Sml. Kjeldahl: Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt; Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1ste Bd. 3die Hefte, S. 539.

Modsætning til vore andre almindelige Kornsorter, hos hvilke de paagjældende Celler dog i alt væsentligt stemme overens med Hvedens.

Hartig har givet Anledning til Forvirring, ved at give de af ham opdagede Proteinkorn Navnet »Klebermehl«. De omtalte Celler, som fandtes at indeholde »Klebermehl«, kunde da kaldes »Klebermehlzellen«; almindeligt kaldes de imidlertid »Kleberzellen«, hvoraf Navnet »Glutenceller« er en ligefrem Oversættelse. I nøje Forbindelse med denne uheldige Forkortning staar den hyppigt trufne Formodning, at »Gluten« findes i disse Celler hos Hveden. Dette er imidlertid ikke andet end en Begrebsforvexling. »Glutencellerne« vides ikke at have noget særligt med »Gluten« at gjøre[1]).

Hos Hvede og Rug findes kun én, hos Bygkornet tre Rækker stivelsefri Frøhvideceller. Paa Grænsen mellem Kimen og de Stivelse førende Frøhvideceller formindskes de dog til én Række (sml. S. 116). Langs den Spalte, som fra Furen gaar dybt ind i Frøhviden, ere disse Celler trængte meget ud af deres oprindelige Retning og ligge uden tydelig Orden. Tab. III, Fig. 4 viser Cellerne i et Tangentialsnit fra Ryggen af Kornet. Sete saaledes have de ikke nogen regelmæssig Form eller Ordning, medens de paa Tværsnit og ganske særligt paa Længdesnit, vise sig meget regelmæssige og radialt ordnede.

Med Hensyn til de nævnte Cellers Indhold findes der flere ældre og nyere Angivelser, af hvilke nogle maa anføres her. Hartig[2]) siger om Kornsorternes Frøhvide, at det yderste Cellelag uden Undtagelse kun indeholder finkornet »Klebermehl«, samt angiver tillige (p. d. a. Sted S. 121), at Kornsorternes Proteinkorn holde sig længere Tid uopløste i Vand, hvilken Omstændighed skal lette Iagttagelsen væsentligt.

S. L. Schenk[3]) har foretaget en speciel Undersøgelse af Hvedens stivelsefri Frøhvideceller og faar som Resultat, at der ikke findes nogen videre stor Mængde Proteinstof i disse Celler. Millons Reagens farver ikke Indholdet, medens derimod Celleslimen

---

[1]) Sml. ogsaa Meddelelser fra den botaniske Forening i Kjøbenhavn Nr. 3. 1883 S. 31—33, Mødet d $^{12}/_{10}$ 82. De sammesteds meddelte mikroskopiske Undersøgelser, som støttede sig til Paalideligheden af Pfeffers Hærdningsmaade, ere i nærværende Afhandling fuldstændiggjorte og berigtigede.

[2]) Entwickelung des Pflanzenkeims 1858.

[3]) Anatomisch-physiologische Untersuchungen. Wien. 1872. S. 32: »Ueber die Vertheilung des Klebers im Weizenkorne«.

(Netværket) i de Stivelse førende Frøhvideceller farves meget stærkt deraf. Paa Jodreaktionens Utilstrækkelighed til Paavisning af Æggehvidestoffer gjør Schenk med Rette opmærksom. De smaa, lysbrydende Korn, som findes i Cellerne, angives at være uopløselige i fortyndet Syre og i kunstig Fordøjelsesvædske; de kunne altsaa ikke bestaa af »Gluten« (Proteinstoffer). Paa forskjellige andre Stoffer reageres med negativt Resultat.

Mærkeligt nok er det særdeles rigelige Indhold af Fedt aldeles undgaaet Schenks Opmærksomhed, endskjøndt det er omtalt flere Steder i Litteraturen, saaledes bl. a. af Sachs[1]) og endnu tidligere af Payen samt af Trecul[2]).

Ved at betragte Snit af Bygkorn (aargammelt Alkoholmateriale af gulmodne Korn) i Vand, iagttog jeg i de omtalte Celler et meget tydeligt, protoplasmatisk Netværk eller System af Kamre. Da Schenk angiver, at de smaa, lysbrydende Korn vare uopløselige i de almindelige Opløsningsmidler for Æggehvidestoffer, laa den Antagelse nær, at Indholdet i Kamrene havde været Fedtkugler eller Draaber som vare opløste af Alkoholen.

Betragtedes Snit af tør Frøhvide i Vand (Tab. III, Fig. 4 a), saas i de nævnte Celler, foruden større, olieagtige Draaber, ofte talrige, smaa, runde, stærkt lysbrydende Legemer af kun lidt varierende Størrelse. Det er disse Legemer, som i Reglen holdes for Proteinkorn. Da de farvedes brunsorte af Osmiumoversyre (1%'s Opl.) og ikke hurtigt brunedes af Jodvand, viste de sig imidlertid at bestaa af Fedt eller Olie. Det er aabenbart disse Legemer, som Schenk har set og erklæret for ej at være af æggehvideartet Natur. Foruden Fedtkuglerne saas løsrevne Smaadele af et finmasket, protoplasmatisk Netværk, som undertiden indeholdt Fedt, undertiden derimod ikke farvedes af Osmiumsyre.

Ved at iagttage tørre Snit i Glycerin eller Jodglycerin kan man ikke afgjøre, om de smaa, lysbrydende Legemer, som da sés, ere Proteinkorn eller Fedtkugler, og da letopløselige Proteinkorn tidligere ere blevne forvexlede med Oliedraaber[3]), benyttedes Pfeffers Fremgangsmaade[4]), som angives at forhindre en saadan Fejltagelse. Forøvrigt angiver Hartig jo, at Græssernes Proteinkorn høre til de mest modstandsdygtige.

[1]) Botan. Zeitung, 1862 (sml. Figurforklaringen S. 150).

[2]) Compt. rend. T. 44. 1867. S. 449.

[3]) Sml. Sachs, Lehrbuch d. Botanik, 4te Aufl. 1874, S. 52.

[4]) Pfeffer: Untersuchungen über die Proteinkörper o. s. v. i Jahrbücher für wiss. Botanik, Bd. 8; S. 440—1, 445.

Tørt fremstillede, tangentiale Snit (saaledes erholdes let større Flager, alene bestaaende af de nævnte Celler) af Byg-, Hvede- og Rugkorn forbleve nogle Dage i en 2⁰/₀'s Opløsning af Kvægsølvtveklor (Sublimat) i absolut Alkohol, efter hvilken Behandling selv de lettest opløselige Proteinkorn angives at blive uopløselige i Vand. Snittene udtoges af Alkolen, bragtes, hvad Pfeffer tilraader, i Vand uden først at skylles med Alkohol, og betragtedes i Glycerin enten strax, eller efter Farvning med Jodvand eller Anilinblaat. Der saas da aldrig andet end et mere eller mindre regelmæssigt, plasmatisk Netværk, uden Korn (sml. Fig. 4 b).

Lagdes Snittene paany i absolut Alkohol, derpaa i Æther, og tørredes de nu, tilsidst ved svag, kunstig Varme, saa kunde man, ved at bringe dem under tykflydende Glycerin og med Naalen fjerne de Luftblærer, som dannes over Præparaterne, iagttage smaa, runde, sort udseende Luftblærer i de talrige Kamre (sml. Fig. 4 c), som altsaa maa have været tomme. Herefter var det da højst sandsynligt, at der i de stivelsefri Celler ikke fandtes Proteinkorn, men derimod Fedtkugler, lejrede i et Netværk af Protoplasma.

Ved at forberede Snit af tørre Bygkorn til at indlægges i Kanadabalsam, bemærkedes imidlertid, at de smaa, lysbrydende Korn ikke opløstes af Kloroform. Tørt fremstillede Snit, som i nogen Tid laa i Kloroform eller Benzol (Kultjærebenzin $C_6 H_6$), viste, nedlagte i Kanadabalsam, meget tydelige Korn (Fig. 4, d), som vare lejrede i et noget svagt Netværk. At det ikke var Hulrum, saas ved at udvaske Snittene med Kloroform eller Benzol, tørre dem[1]) og lægge dem under Glycerin eller tykflydende Kanadabalsam. Der fandtes da kun uregelmæssige, luftfyldte Sprækker mellem de smaa Korn, rimeligvis opstaaede ved Forskrumpning af det paa Grund af Fedtet Fjernelse temmelig stoffattige Netværk. Da disse Korn ikke kunne være Fedtkugler og ej heller ere Stivelse, ere de utvivlsomt Proteinkorn.

Hartig og Schenks Angivelser, at de iagttagne smaa Legemer ere uopløselige i eller modstandsdygtige mod Vand o. s. v., gjælde derfor ikke Proteinkornene, men de smaa Fedtdraaber, som maa udskilles af Netværkets Masse ved Svulmningen i Vand. Proteinkornene hos Kornsorterne paavirkes derimod, trods Sublimatalkoholens Indvirkning, meget stærkt af Vand og give, idet

[1]) Denne Tørring maa foretages i et tørt, varmt Værelse eller i en svagt opvarmet Tørreovn; ellers kan der let paa Præparatet fortættes en ikke ubetydelig Mængde Vand, som kan indvirke forandrende paa Objektet.

de blære sig op, Celleindholdet Udseende af et Netværk, hvis Hulrum ere de i Proteinkornene dannede, store Vakuoler, og hvis Vægge ere dannede ved Sammensmeltning af Proteinkornenes yderste Lag med den for Fedtet befriede Mellemmasse[1]). Sublimatalkoholen viser sin Virkning, foruden ved at fjerne Fedtet, ogsaa derved, at Celleindholdets Destruktion ikke gaar videre end skildret, medens Indholdet hos ikke hærdede Snit meget utydeliggjøres ved Vandets Indflydelse, samtidigt med de smaa Fedtdraabers Udtrædelse.

Det ses nu tillige, at Pfeffers Fremgangsmaade ikke byder nogen ubetinget Garanti. Faktisk har Troen paa denne Hærdningsmethodes Sikkerhed ført mig til Forvexling af Proteinkorn med Fedtdraaber, skjøndt Methoden netop blev udtænkt for, hvad den i de fleste Tilfælde vel ogsaa kan, at hindre en slig Fejltagelse. Det har forøvrigt vist sig, at Præparater af Hasselnød og enkelte andre Frø, som have lidet modstandsdygtige Proteinkorn, efter Behandling paa den omtalte Maade viste større eller mindre Vacuoler i Proteinkornene.

Det er ej heller ganske rigtigt, at Sublimatalkohol altid gjør Æggehvidestoffer uopløselige[2]); er Æggehviden tør, kan Reagenset ikke paavirke andet end det alleryderste, tynde Lag[3]). Lufttørret, middelfint pulveriseret Hønseæggehvide blev saaledes ved længere Tids — flere Ugers — Henstand med Sublimatalkohol og derpaa følgende Afskylning med Vand, ikke gjort uopløselig; Smaastykkerne bolnede særdeles stærkt ud og afgave betydelige Mængder Stof til Vand.

Hvorvel man ikke uden videre kan overføre et saadant Resultat paa de organiserede, mikroskopiske, ikke Vand taalende Proteinkorn, kan det dog tjene som en Paamindelse om, ikke at stole for sikkert paa de Methoder, som skulle fixere Objekternes finere Struktur, i alt Fald ikke, naar de anvendes paa tørre Gjenstande.

Med Hensyn til den kemiske Undersøgelse træder Upaalideligheden af mange mikrokemiske Reaktioner stærkt frem som et svagt Punkt i den botaniske Mikroskopi. I denne Sammenhæng have Fedt og Proteinstofferne særlig Interesse, hvorfor nogle al-

---

[1]) Tangl: Das Protoplasma der Erbse. 1ste Abhandlung, Sitz.-Ber. d. Wiener Acad. 1877, Særtryk S. 56, skildrer en lignende Proces hos Ærtens Proteinkorn, naar de behandles med Glycerin.

[2]) Poulsen p. d. a. Sted S. 51.

[3]) En Antydning heraf findes hos Pfeffer p. d. a. Sted, S. 445; ved Angivelsen om kortvarig Indvirkning af Sublimatalkohol paa Proteinkornene hos Pæonia.

mindeligt anvendte mikrokemiske Kjendetegn i al Korthed skulle omtales.

At Fedtstofferne i det hele taget ere stedmoderligt behandlede i Litteraturen, fremgaar af den Omstændighed, at baade Poulsen i de forskjellige Udgaver af sin bekjendte Mikrokemi, og Behrens i sin iaar udkomne, større Bog[1]), endskjøndt der begge Steder er taget Hensyn til en udstrakt Litteratur, kun offre disse Stoffer en meget ringe Plads og flygtig Omtale[2]).

I de to Mikrokemier angives flere Reaktioner paa Proteinstoffer, af hvilke nogle imidlertid lige saa godt passe paa Fedtstoffer (og andre). Saaledes optager Fedt eller Olie, som bekjendt, mange Farvestoffer — de fleste Anilinfarver næsten lige saa hurtigt, som Proteinstoffer optage dem, Eosin og andre derimod noget langsommere. Jod optages ligeledes, med stigende Hastighed eftersom den anvendte Opløsning indeholder større procentisk Alkoholmængde[3]); dog farves Proteinstofferne som Regel meget hurtigere. Stærk Salpetersyre giver, med eller uden efterfølgende Behandling med Amoniak, en brun eller gul Farve med Fedt saa vel som ogsaa med andre Stoffer. Derimod farves Fedt ikke ved Millons Reagens og heller ikke af Karminopløsninger. At Millons Reagens er aldeles upaalideligt og farver flere, ikke æggehvideartede Stoffer, er bekjendt nok; her kan blot anføres, at Kornsorternes Avner farves intensivt røde eller rødbrune. Nærværelse af Fedt hindrer Millons Reagens meget i at paavirke Proteinstofferne; stærkt fedtholdigt Plasma farves neppe deraf. Karminfarvningen besværliggjøres eller hindres ligeledes af Fedt. Forinden man reagerer paa Proteinstofferne, bør Fedtet saa vidt muligt altid fjernes fra Præparaterne, f. Ex. ved Benzol. Karminet, anvendt i en meget fortyndet Opløsning, ligesom ogsaa Svovlsyre og Sukker turde have særlig Betydning som Æggehvidereagenser, dog kun naar de andre Midler ogsaa give positive Resultater. Hvor fristende det end er,

---

[1]) Behrens: Hilfsbuch z. Ausführung mikroskopischer Untersuchungen 1883.

[2]) Behrens begaar den mærkelige Fejl (S. 374), at inddele de i Planterne forekommende Fedtstoffer paa følgende, kategoriske Maade: »enten ere de flydende (fede Olier), eller de ere faste Legemer (Vox)«. Der nævnes ikke fast Fedt, som dog hyppigt forekommer, f. Ex. i krystallinsk Former hos Paranødden. (Sml. Pfeffer p. d. a. Sted. Tab. 36, Fig. 16).

[3]) Heri maa vistnok Forklaringen søges til Sachs's og Pfeffers Iagttagelser m. H. til Farvningen af Proteinkornene og Grundmassen i Lupinfrø ved Behandling med Jod, opløst i stærkere eller svagere Alkohol. (Sml. Pfeffer p. d. fi. Sted, S. 437).

at gaa nærmere ind paa disse Spørgsmaal, maa jeg dog nu vende tilbage til denne Meddelelses egentlige Æmne.

De tre yderste Lag Frøhvideceller hos Bygkornet indeholde altsaa lidet modstandsdygtige Proteinkorn, lejrede i en meget fedtrig Grundmasse. Cellekjærnerne ere særdeles tydelige. Væggene ere tykke og indeholde som Oplagsnæring en ikke ringe Mængde Cellestof. Det samme gjælder for Hvedens[1]) og Rugens et Lag mægtige, stivelsefri Frøhvideceller.

Indenfor de nævnte Celler ligge de Stivelse førende Frøhvideceller, af hvilke de yderste ere betydeligt mindre end de dybere liggende og have tykkere Vægge. Stivelsekornene ere lejrede i en meget svagt grynet Protoplasmamasse, der paa tynde Snit viser sig som et Netværk; særlige Kapsler omkring Stivelsekornene har jeg ikke kunnet finde. Egentlige Proteinkorn kunne ikke iagttages her, Grynene ere vel for utydelige til denne Betegnelse[2]).

Stivelsekornene i de henad Omkredsen og mod Kornets Spids liggende Celler ere langt færre i Antal end dybere inde i Frøhviden; de ere, som det ses paa Tab. III, Fig. 1, omtrent lige store og meget mindre end de indre Cellers store Korn. Jo længere ind imod Midtpartierne af Frøhviden, desto rigeligere findes Stivelse i Cellerne, og desto større blive Kornene; først fra det

---

[1]) I det ifjor udkomne Værk af Emerich Pekár: »Weizen und Mehl unserer Erde«, Budapest 1882, som vistnok har stor Betydning m. H. til Hvedeundersøgelser i praktisk Øjemed, findes der S. 4—13 en anatomisk-fysiologisk Beskrivelse af færdige Hvedekorn, ledsaget af en Tavle Figurer.

Denne Beskrivelse er i sin Helhed noget forfejlet, hvad det er saa meget vigtigere at gjøre opmærksom paa, som Forfatteren (sml. Fortalen) søger »at give et videnskabeligt korrekt Billede af Hvedekornets Struktur«. Ved Undersøgelsen kan der næppe være taget videre Hensyn til Udviklingshistorien eller til den nyere Litteratur; thi det stivelsefri Lag af Frøhviden betegnes »Keimhülle (Membrana embryonalis, Albumen, Perisperm)« og der angives, at dette Lag omgiver hele Frøhviden og kun lader en Side af Kimen fri, hvor det dog skal hænge sammen med »Skjoldet«, der skal have fuldstændig lignende Beskaffenhed som det nævnte Lag Celler. Dette Lag »danner saa at sige »Skjoldets« Fortsættelse«, angiver Pekár; fremdeles holder denne Forfatter sig til Mege-Mouriès ganske forældede Undersøgelser m. H. til disse Cellers Indhold. Der tilskrives de nævnte Celler nogle højst mærkelige fysiologiske Egenskaber, hvilke Angivelser her ikke nærmere skulle kritiseres; kun maa jeg gjentage, at Hvedens Fedt førende Frøhvideceller m. H. til Indhold vise den største Overensstemmelse med Byggens. Blandt Pekárs Afbildninger lide flere af væsentlige Mangler.

[2]) Sml. Pfeffer p. d. a. Sted, S. 489.

andet eller tredie Lag optræde i væsentlig Mængde de ganske smaa Stivelsekorn, der, indlejrede paa samme Maade som de store, findes mellem disse[1]).

Det proteinrige Netværk i Cellerne bliver tyndere og tyndere indad mod Frøhvidens Midte, men det mangler ingensteds. Paa tørt fremstillede, tynde Snit af de hornagtige, saakaldte »glassede« Korn, hvis Celleindhold ikke saa let sønderrives, ses det meget tydeligt, naar Snittet lægges i Kanadabalsam (en ikke for tykflydende Opløsning). Da Stivelsekornene nemlig have meget nær samme lysbrydende Evne som Balsamen, ses de ikke, men vise en skuffende Lighed med større og mindre Hulrum i den proteinrige Grundmasse, Celleslimen.

Hos Korn, i hvis Frøhvideceller der findes talrige Luftblærer (»melede« Korn), og hvis Celleindhold meget let sønderrives, har man undertiden ment, at det protoplasmatiske Netværk manglede, navnlig i de indre Celler (se nedenfor). Dette er dog ikke Tilfældet. Udblødes Kornene én eller bedre et Par Dage med Vand, saa kunne de bag efter hærdes med Alkohol efter Strasburgers Maade (sml. S. 104). Fremstilles nu tynde, men paa Grund af Glycerin-Alkoholens Indvirkning hele Snit, saa ville, hvad enten der anvendes »melede« eller »glassede« Korn, Farvemidler let kunne tydeliggjøre Netværket, især naar man, efter at have vasket det farvede Snit med Vand, Alkohol, Æther og Kloroform, lægger det i Kanadabalsam. Det synes for øvrigt, at Netværkets Masse i de længst fra Omkredsen liggende Celler ikke saa begjærligt optager Farvestof, som de ydre Cellers. Om man maaske blot skuffes af det svagere Nets ringe Masse, maa jeg lade staa uafgjort; jeg tror imidlertid, at der virkelig er en Forskjel tilstede.

Netværket kan ogsaa gjøres meget tydeligt paa følgende Maade. Snittet (dersom det er fremstillet af Alkoholmateriale, da efter Udvaskning med Vand) behandles paa Oblektglasset i 15 til 30 Minuter med fortyndet Salpetersyre (15 à 25%), hvortil der er sat nogle Draaber »Skedevandsbejtse«[2]). Efter at Præparatet,

---

[1]) Egnene omkring den Spalte eller Fold, som gaar ind til Frøhvidens Midte (sml. S. 115), høre jo til Frøhvidens oprindelige Omkreds; Stivelsekornene have ogsaa her kun Mellemstørrelse eller ere endog mindre. Netværket er her ganske vist stærkt, dog ikke nær saa svært som i de andre, nær Omkredsen liggende, mindre fortrykte, Stivelse førende Celler.

[2]) Denne Vædske faas i Handelen; ogsaa kaldet Aloebejtse. Fremstilles ved at opvarme Aloe med fortyndet Salpetersyre, indtil stærk Brusning indtræder, og derpaa at fortynde med Vand.

stadigt liggende paa Objektglasset, forsigtigt er vasket med Vand, tilsættes Glycerin, og Dækglasset paalægges. Særdeles tydelige Demonstrationsobjekter, der vise Netværket med en smuk, brunlig Farve, kunne saaledes opnaas. Da Snittene bulne stærkt ud ved denne Behandling, bør man undgaa for store Præparater; thi de krølles let.

Tab. III, Fig. 5 viser det omtalte Netværk i et Par af de ydre Stivelse førende Frøhvideceller fra Siden af Kornet, behandlede med en frisk Opløsning af Klorzink, Karmin og Eddikesyre[1]). Fig. 8 viser en Del af Netværket i en dybere liggende Celle, hvor der mellem Rummene til de store Stivelsekorn ligge talrige smaa. Disse Figurer ere tegnede efter samme Præparat af et tørt, halvmelet Korn. Cellekjærnerne hos de Stivelse førende Celler ere ganske sammenfaldne; de sés ikke tydeligt.

I Byggens Frøhvide findes, saavidt mine Iagttagelser gaa, ingen Mellemcellerum, Alle Frøhvidens Vægge danne ét hele; løse Celler findes ikke. De Afbildninger, paa hvilke de enkelte Frøhvideceller hos Rug, Byg og Hvede ere tegnede med deres egne særlige Vægge, trænge til Korrektion. Saaledes er det urigtigt, naar Kudelka (p. d. a. Sted Fig. 17 o. fl.) lader de stivelsefri Cellers Vægge fremtræde som et hele for sig, skarpt afgrænset mod de (ikke afbillede) indre Frøhvideceller. Grønlund har i sine flere Steder optagne Afbildninger[2]) lignende Fejl, som forøvrigt findes hos forskjellige ældre og nyere Forfattere, f. Ex. Payen, Tietschert, Nowacki, Pekár o. fl. De anførte Billeder fra Litners Bog (tegnede af Hermann) have derimod ikke denne Mangel, lige saa lidt som Rützous Originaltegninng hos Warming, Almindelig Botanik, S. 62.

De lufttørre Byg- og Hvedekorn kaldes »melede«, naar de ere bløde og ved at gennemskjæres vise en snehvid, fløjelsagtigt skinnende Frøhvide, som er meget porøs og let sønderrives; de kaldes »glassede« (»hornagtige«, »flintede«), naar Frøhviden er haard, fast, gjennemskinnelig, og viser en mere eller mindre mørk (graa, brunlig, rødlig) Snitflade. Imellem disse to udprægede

[1]) Denne Fremgangsmaade, ved hvilken der opnaaedes nogle smukke Præparater, er dog paa Grund af dens Omstændighed upraktisk: den omtales kun for Figurforklaringens Nøjagtigheds Skyld.

[2]) Til Afhandlingen: »Bidrag til Oplysning om Græsfrugtens Bygning hos forskellige Slægter og Arter«. Botanisk Tidsskrift, 3die Række, 1ste Bd. S. 140.

Typer findes jævne Overgange, hvorfor det ofte er vanskeligt at afgjøre, om et Korn er mere »melet« end »glasset«. Maaden, hvorpaa de melede Partier ere fordelte i delvis glassede Korn, kan være forskjellig; hyppigst ere Kornenes indre Dele melede, medens de ud imod Omkredsen liggende Dele ere glassede.

I denne Meddelelse skulle kun de mikroskopiske Undersøgelser af de to forskjellige Slags Korn omales. Nowacki[1]) angiver, at Frøhviden hos melet Hvede indeholder Luft mellem Stivelsekornene, medens der i glasset Hvede ikke findes Lufttrum. Det hedder: »betragter man temmelig tynde Snit i Olie eller Glycerin »under Mikroskopet, saa sér man i de paagjældende Frøhvideceller »mellem Stivelsekornene i det melede Korn en Mængde smaa, »uregelmæssigt kantede, mørke Pletter — indesluttede Luftblærer, »medens der mellem det glassede Korns Stivelsekorn ikke kan »iagttages saadanne Pletter«.

Grønlund[2]) har fundet dette stadfæstet hos Bygkornene, »de mange smaa Lufttrum gjøre da Kornet uigennemsigtigt . . .«. Denne Forfatter fæster imidlertid Opmærksomheden paa Proteinstoffernes Forekomst i de to Slags Korn og tager ikke videre Hensyn til de luftfyldte Mellemrum.

Samsøe Lund[3]) angiver i Modsætning til Grønlund, at Luftblærerne i Byggens Frøhvide ligge mellem Cellernes Vægge og deres Indhold, samt at der ogsaa i glasset Korn findes nogen Luft. Der skrives (p. d. anf. S. 448, Særtryk S. 9): »at melede Korn »indeholde en langt betydeligere Mængde af Luft, her siges ud- »trykkelig Mængde af Luft; thi der findes ikke noget Korn saa »glasset, uden at det jo dog indeholder nogen Luft«.

At Samsøe Lund kommer til dette sidste Resultat, er en Følge af den anvendte Fremgangsmaade ved Præpareringen af Snittene. Af Nowacki og Grønlund ikke ogsaa fandt Luftrum i glasset Frøhvide, synes at bero paa Tilfældigheder, maaske have Iagttagelserne ikke været talrige, da de ellers vistnok havde ført til en lignende Anskuelse som Samsøe Lunds. Grønlund har imidlertid i sin senere Afhandling[4]) optaget dennes Angivelser,

---

[1]) Paa det anførte Sted, S. 38. Haberlandts Undersøgelser over Hvede, der ogsaa tage Hensyn til Forskjelligheder mellem melede og glassede Korn og skulle findes i »Landw. Centralblatt for Deutschland v. Krocker u. Wilda, 1866«, har det været mig umuligt at faa Adgang til.

[2]) Om Melbyg og Glasbyg, S. 15.

[3]) Glasbyg og Melbyg. »Tidsskrift f. Landøkonomi« 1881. S. 442.

[4]) I Tidsskrift f. Landøkonomi 1882.

ja er endog gaaet meget videre, idet der (S. 697, Særtryk S. 44, sml. ogsaa S. 687, Særtryk S. 34) udtales, at det ofte vil bero paa et Skjøn, om man finder mere Luft i det ene eller det andet Slags Korn.

Denne Fejltagelse har sin væsentlige Grund i dette Forhold: ved at fremstille Snit af glassede Korn paa almindelig Maade, føres under selve Præpareringen næsten altid Luft ind i Objekterne. Middeltynde, tørt fremstillede Snit af saadanne Korn blive næsten altid hvide, uigjennemsigtige og have altsaa tabt det karakteristisk glasagtige. Snittene knækkes nemlig under Fremstillingen, og derved slipper Luft ind i de opstaaede Sprækker, ganske som naar Glas knuses. Det har nu vist sig, at disse fine Spalter særlig følge Cellevæggene, navnlig ved Længdesnit; og Præparater, fremstillede af det mest »typisk« glassede Materiale, vise da oftest Luftrum langs Væggene.

Den almindeligt anvendte Præparationsmethode giver saaledes ingen Garanti; derimod opnaas det paa følgende Maade at undgaa den nævnte Fejl. Kornet skjæres over, og Snitfladen glattes omhyggeligt ved Hjælp af Barberkniven. Derpaa trykkes Kornet, med Snitfladen nedad, i en meget tykflydende og sejg Blanding af Kanadabalsam og Kloroform, idet man passer paa, at ingen Luftblære kommer ind mellem Snitfladen og Balsamen. Dette er uden Vanskelighed. — Balsamen har man anbragt enten direkte paa et Objektglas eller, hvad der er bedre, paa et ikke for lille Dækglas, som for Fasthedens Skyld er klæbet til en lille Glasplade ved Hjælp af lidt arabisk Gummi.

Efter at det hele nu har henligget tilstrækkeligt længe til at Balsamen er bleven fast, kan man med en lille Fil eller Kniv bortraspe saa meget af Kornet, at en Plade af ønsket Tykkelse bliver tilbage, og derpaa med Barberkniven glatte Overfladen. Det saaledes fremstillede Præparat dækkes med tykflydende Balsam, og der paalægges nu Dæk- eller Objektglas. Efter kortere Tids Tørring kan det hele — om fornødent — lægges i Vand, for at Gummien mellem Dækglas og den tilklæbede Glasplade kan opløses. Da den først fremstillede Snitflade i Reglen vil være den glatteste og mest jævne, ere de Præparater, hvor denne Flade vender mod Dækglasset, de smukkeste.

Ved den skildrede Fremgangsmaade, nærmest en Slibning, faar man af rent glassede Korn fuldstændig gjennemskinnelige Plader, der ikke indeholde Luftrum, medens saadanne findes i stor Mængde i melede Frøhvideceller. Det kan derfor siges, at rent glassede Frøhvideceller ikke indeholde

Luftrum; findes saadanne, da er Kornet ikke rent glasset, men nærmer sig i samme Grad, som Luftmængden stiger, til det rent melede.

Med Hensyn til Luftrummenes Plads i de melede Frøhvideceller bleve to forskjellige Anskuelser allerede nævnte. Medens Nowacki for Hvedens, og Grønlund for Byggens Vedkommende mene, at Luftblærerne findes »mellem Stivelsekornene«, paastaar Samsøe Lund, at de ligge mellem Cellevæg og Celleindhold. En Del af Luftrummene findes vistnok ved, eller ikke langt fra Cellevæggene, men jeg har dog nogle Gange sikkert kunnet paavise Luftblærer dybere inde i Cellen. Har man ved »øverste Indstilling« af Mikroskopet nogle Stivelsekorn, under disse en Luftblære, og ved endnu dybere Indstilling atter Stivelsekorn, da maa Luften have været dybere inde i Cellen. Paa Grund af de paagjældende Objekters Uigjennemsigtighed lykkes det imidlertid sjældent at se slige Luftblærer med tilstrækkelig Tydelighed.

At Luften ikke almindelig findes som ganske smaa Blærer, har Samsøe Lund allerede paavist; af den Omstændighed, at der ikke ses Luftblærer, naar temmelig tynde Snit af melede Korn lægges i Glycerin, tør man dog ikke slutte, at der ej findes Luftrum i Celleindholdet; thi Luftblærerne kunne jo maaske ofte staa i Forbindelse med hverandre. Dersom Luftrummene alene fandtes mellem Cellevæg og Celleindhold, maatte man undre sig over den Lethed, hvormed netop Indholdet af de melede Frøhvideceller falder hen i Smaadele. Dette sidste Forhold tyder paa en temmelig jævn Fordeling af Luftrummene over hele Celleindholdet.

Foruden de Luftrum, som ere karakteristiske for melede Frøhvideceller, findes ikke sjældent Revner eller Spalter tværs igjennem Frøhviden, især hos glassede Korn. Disse Revner, som let kjendes fra melede Cellers Luftrum, ere sandsynligvis opstaaede ved Afgrødens Behandling (Tærskning, Korning), dog er det ikke udelukket, at saadanne Spalter kunne opstaa under Kornenes Skrumpning. Mellem Skallens Lag, mellem Skal og Kjærne samt undertiden midt i Kornet findes luftfyldte Hulrum, der variere meget i Størrelse og gjøre Vægtfyldebestemmelser upaalidelige, i alt Fald naar de anstilles for at drage Slutninger angaaende Luftmængden i Frøhvidens Celler.

Den Ejendommelighed, som betinger et Korns melede Udseende, er altsaa Forekomsten af luftfyldte Mellemrum i Frøhvidecellerne. Foruden denne Ejendommelighed har man ogsaa søgt andre anatomiske Forskjelligheder imellem de to Slags Korn.

Nowackis[1]) Iagttagelser gave ham den Forestilling, at Stivelsekornene hos melede Hvedekorn ligesom ere voxede ud af Celleslimen (»Netværket«, se ovenfor) og ligge frit, løse i Cellerne. Grønlund[2]) førtes i Overensstemmelse hermed til den Anskuelse, at et særligt, kvælstofholdigt Stof (d. v. s. Celleslimen) omgav Stivelsekornene i glassede Bygkorns Frøhvideceller, medens det manglede, eller næsten manglede hos melede Korn, som i Stedet for det nævnte Stof førte Luft. Denne Antagelse blev tilbagevist af Samsøe Lund[3]), som fandt, at Celleslimen baade i melede og glassede Frøhvideceller omslutter Stivelsekornene, samt at Celleslimens Strænge, (»Netværket«, sml. Tab. III, Fig. 5 og 8) ere særligt stærke i Cellerne ud imod Kornets Omkreds, svagere ind imod dets Midte. Dette stemmer ganske med mine Iagttagelser (se Side 124) saavel hos Byg, som hos Hvede. Ved Præparaternes Fremstilling maa Nowacki og Grønlund vistnok have beskadiget Netværket i de melede Frøhvideceller.

Holzner[4]) angiver, at »gjentagne mikroskopiske Undersøgelser »overbeviste ham om, at i glasset Byg var Antallet af de store Stivelse- »korn forholdsvis meget ringere end i normal (d. v. s. melet) Byg«. Der siges i den korte Bemærkning ikke, at det nævnte Forhold skal være Grund til det glassede Udseende; men en saadan Betydning tillægges dog Holzners Ord i Thausings ansete Lærebog[5]). Der siges nemlig under Henvisning til Holzner: »medens »man tidligere antog, at Aarsagen til, at Byg er glasset, skulde »søges i et betydeligt Indhold af Gluten (her maa menes »Protein- »stof«), hvilken Anskuelse synes gjendreven derved, at stor Glasset- »hed aldeles ikke behøver at falde sammen med stort Proteinindhold, »og at melet Byg ikke altid behøver at være stivelserig (Schultze), »antager man nu, at Glassetheden er betinget ved Nærværelsen af »store Mængder smaa Stivelsekorn«. Til Forekomst eller Mangel af Luftrum tages i Thausings Bog slet ikke Hensyn.

Den nævnte Anskuelse er ikke rigtig. I de yderste, mest glassede Celler hos halvt melede Korn findes ingen eller kun faa ganske smaa Stivelsekorn; jo længere ind mod Kornets Midte, altsaa ind mod de mest melede Egne, jo flere af de ganske smaa Stivelsekorn findes der

---

1) Paa det anførte Sted, Side 77.
2) Om Melbyg og Glasbyg, Side 14—15.
3) Paa det anførte Sted, Side 442—444, Særtryk, S. 3—5.
4) I »Zeitschrift f. d. gesammte Brauwesen« 1878, Side 276, Anm. under Texten.
5) Thausing: Die Theorie u. Praxis d. Malzbereitung u. Bierfabrikation. 2te Auflage, Leipzig, 1882, Side 186.

mellem de store. Desuden kan Frøhviden jo slet ikke vise sig »melet«, hvilken Størrelse Stivelsekornene end maatte have, naar der ikke findes luftfyldte Mellemrum i Cellerne. Og endelig kan der med Hensyn til Stivelsekornene slet ikke sés nogen Forandring, naar glassede Korn ved Udblødning og paafølgende Tørring ere blevne melede; ligesom ogsaa „Netværket« synes uforandret, bortsét fra de dannede Luftrum. Grønlund har forøvrigt i sin første Afhandling (S. 13) paavist Urigtigheden af en Anskuelse som den i Thausings Bog fremsatte.

Imidlertid synes det, saavidt det kan siges uden omhyggelige og talrige Tællinger, som vanskeligt her lade sig udføre med Sikkerhed, at, naar ensliggende Dele[1]) af Frøhviderne sammenlignes, de glassede Korn have en noget større Mængde smaa Stivelsekorn, end de melede af samme Afgrøde. Der kan imidlertid indenfor en ret glasset Afgrøde være lignende Forskjelligheder. Paa samme Maade forholder det sig med Hensyn til Mægtigheden af det protoplasmatiske Netværk, hvori Stivelsekornene altid ere lejrede.

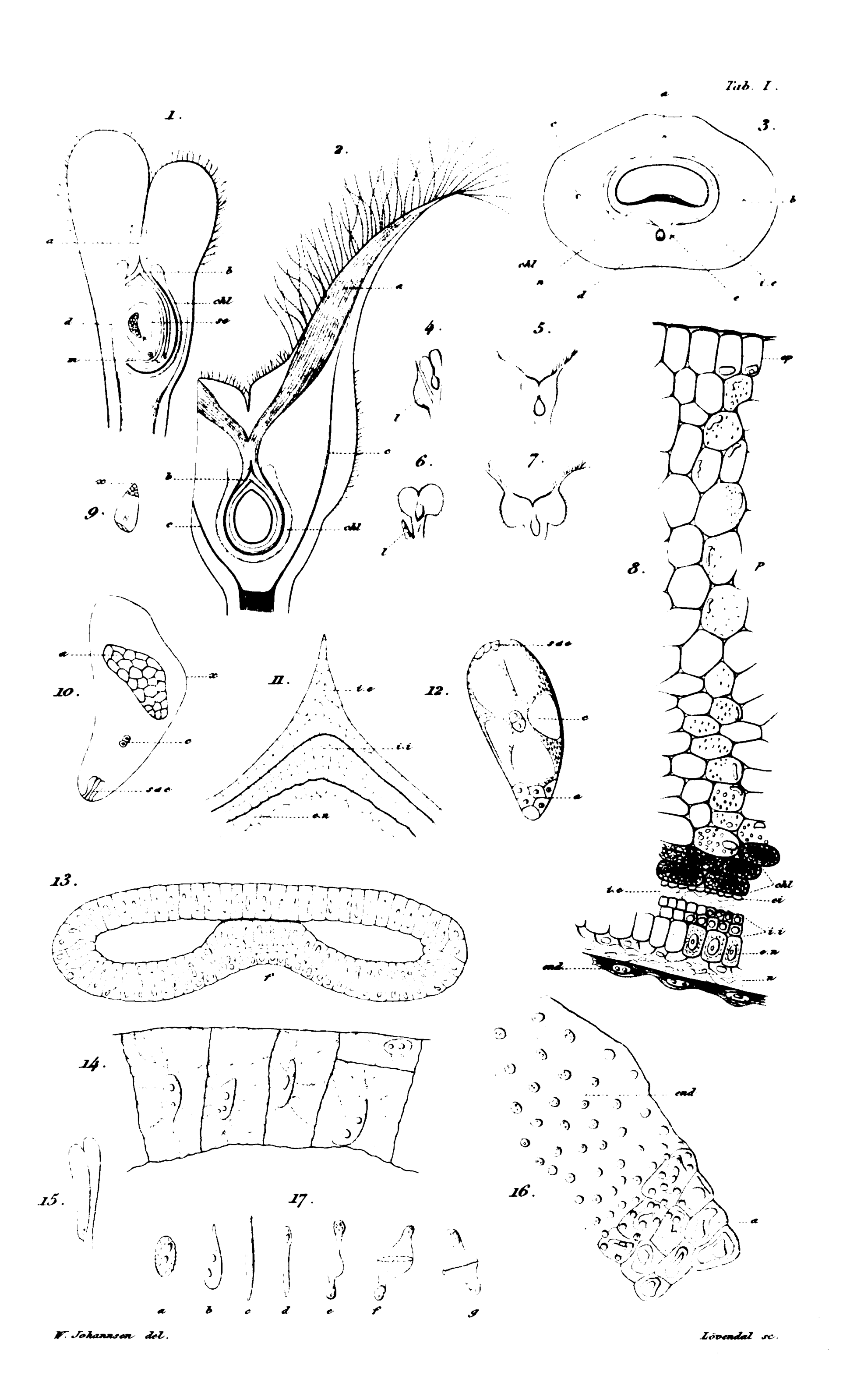
At »Skallens« Farve og Skjær for en stor Del er betinget af det gjennemsigtige glassede, eller uigjennemsigtige melede Indre, er indlysende. En Demonstration heraf faas ved med lette Hammerslag at banke et glasset Korn, saa at det knuses indvendigt; Kornets Farveskjær forandres strax. I sig selv meget hvide Avner ledsage ofte Glassethed. At »Skallens« Tykkelse ikke staar i noget bestemt Forhold til Frøhvidens glassede eller melede Karakter, har Grønlund godtgjort ved en Række Maalinger[2]), hvis Resultater stemme fuldstændig med mine Iagttagelser.

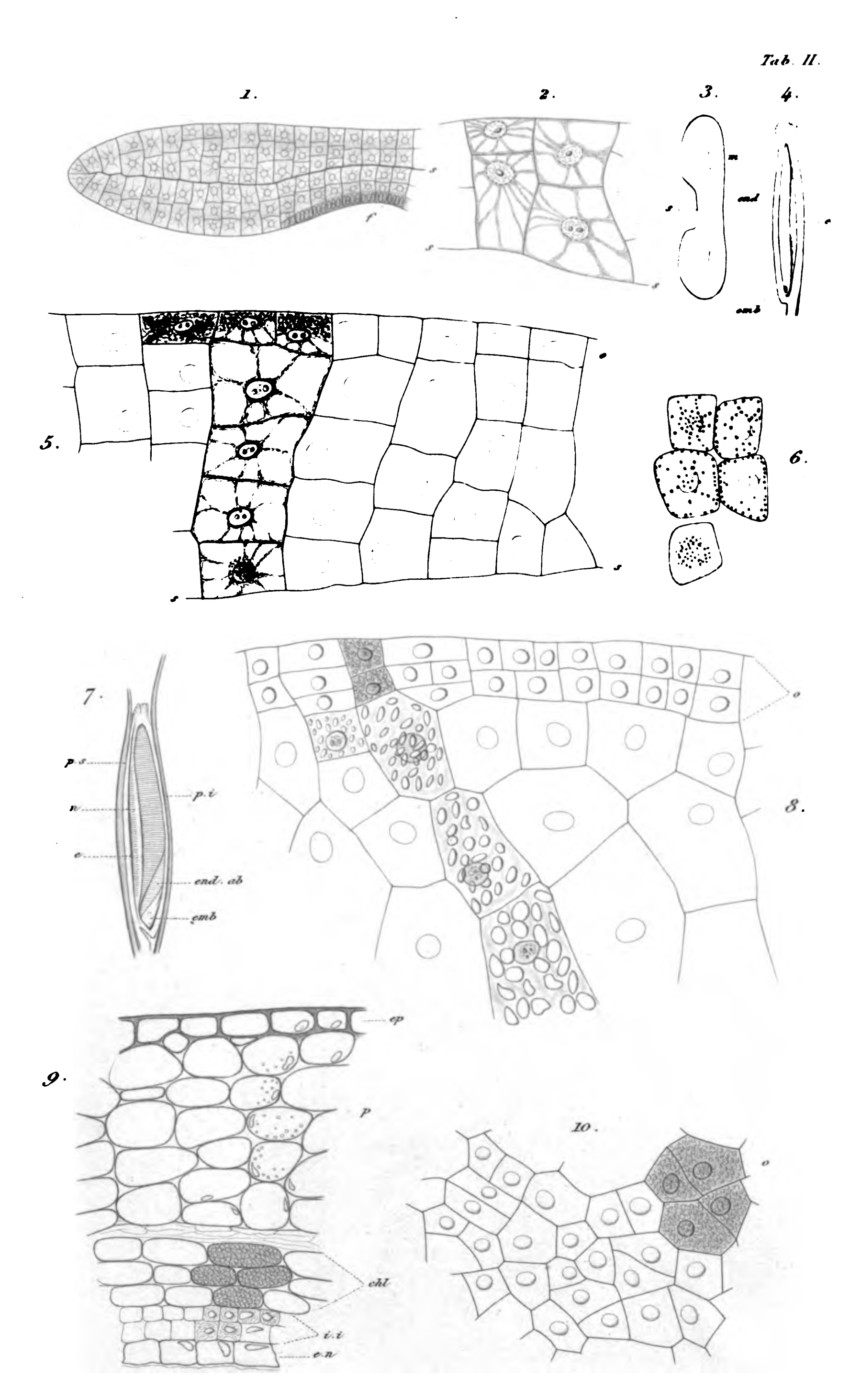
Med Hensyn til Kornenes Form og Størrelse synes der ikke at være nogen Konstans, der kan benyttes til at drage Slutninger. Indenfor samme Afgrøde ville de glassede Korn hyppigst tillige være de længste og mindst smukke.

---

[1]) Ved sammenlignende mikroskopisk Undersøgelse af Korn maa altid »ensliggende« Dele sammenholdes. Vilde man f. Ex. sammenligne de mest »typisk glassede« ydre med det mest »typisk melede« indre Egne af Frøhvider, da vilde man faa et aldeles urigtigt Resultat.

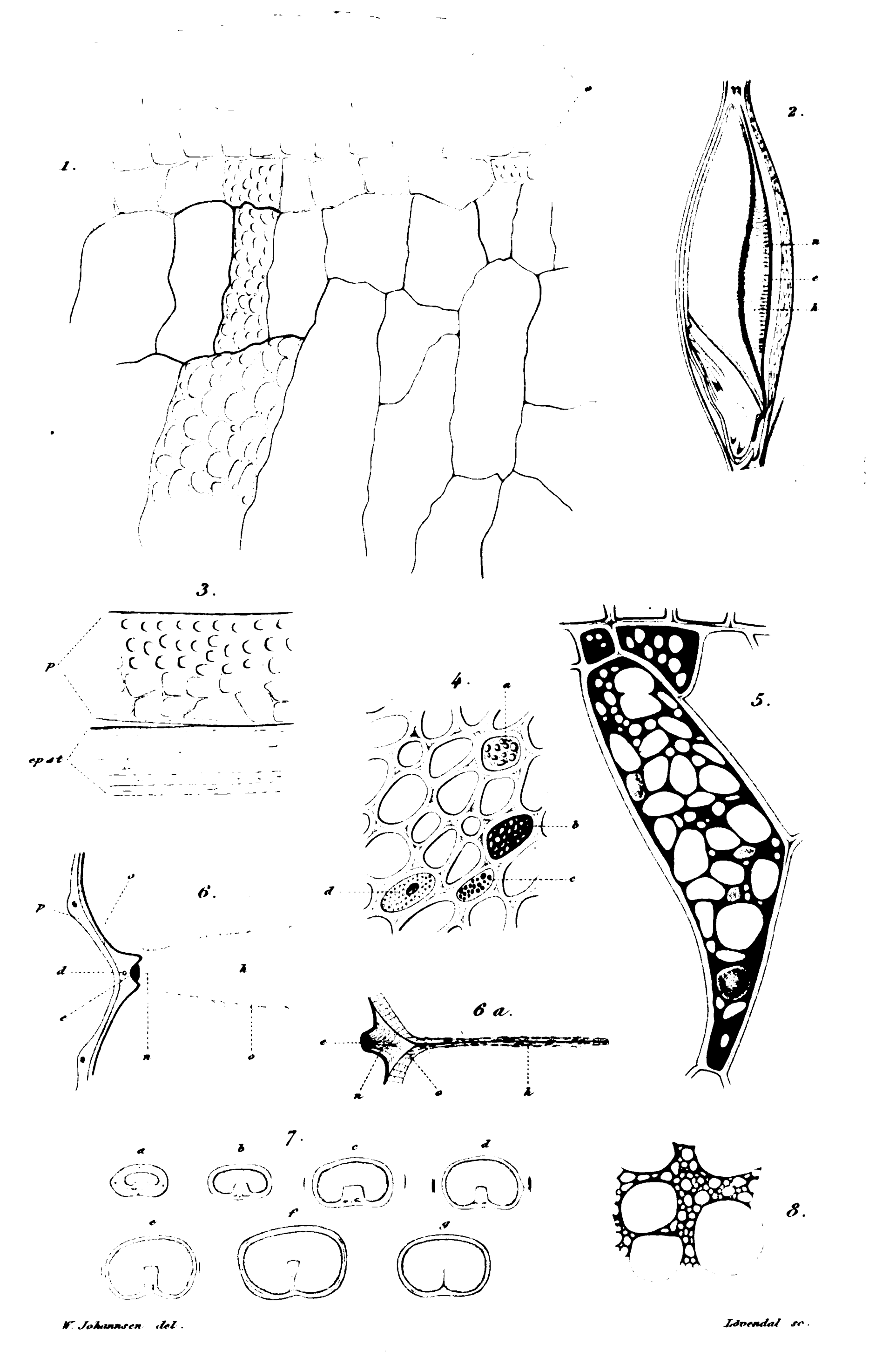
[2]) Om Melbyg og Glasbyg, Side 28—32.


Tab. I.
1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
a
b
c
d
e
f
g
chl
se
sac
i.e
i.i
n
ep
p
ei
end
W. Johannsen del.
Lövendal sc.



W. Johannsen del.

Lövendal sc.



W. Johannsen del. Lövendal sc.

FORKLARING TIL TAVLERNE.

TAVLE I.

Fig. 1. Mediant Længdesnit af Byggens Frugtknnde, kort efter Befrugtningen c. $\frac{16}{1}$. Skematiseret, ligesom Fig. 2 og 3. Til venstre Bugsiden, til højre Rygsiden. a. det ledende Væv; b. Æghindernes Top; chl. de Bladgrønt førende Celler; d. Karstrængen ved Bugsømmen; m. Kimmunden. I yngre Frugtknuder er den vendt endnu mere mod Siden. se. Kimsækken med Indhold.

- 2. Lodret paa Medianplanet udført Længdesnit, samme Stadium som Fig. 1 c. $\frac{16}{1}$. Snittet tænkes lagt skraat nedad gjennem den arbærende Del af Frugtknuden. Figuren er tegnet efter flere Præparater. a., b. og chl. som i Fig. 1; c. Strænge, der tabe sig oppe i Arrene.

- 3. Tværsnit af Frugtknuden, ført over Midten af Ægrummet. c. $\frac{21}{1}$. Frøhviden bestaar af et Lag nøgne Celler. a, b, c, d. Strænge; e. Æggets Tilhæftningssted, hvorfra forskjellige Hinder udspringe (Sml. S. 105); chl. og ie. som i Fig. 8.

- 4-7. Mediane og lodret paa Medianplanet udførte Længdesnit af Frugtknuden hos Hord. macrolepis var. nigr. 4 & 5 ved Befrugtningstiden, 6 & 7 nogen Tid efter; l. Lodikler c. $\frac{4}{1}$. (Sml. S. 106—107).

- 8. Brudstykke af Fig. 3, (lidt nedenfor b.) c. $\frac{250}{1}$. ep. Overhud; p. farveløst, Stivelse førende Parenkym; chl. Bladgrønt og Stivelse førende Celler, strakte paa tværs; ei. Frugtknudens indre Overhud; ie. Æggets ydre Hinde; ii. den indre Æghinde; en. Ægkjærnens Overhud; n. Rest af Ægkjærnen; end. den unge Frøhvide, nøgne Celler.

- 9. Kimsækken før Befrugtningen, c. $\frac{70}{1}$. (Sml. Fig. 12).

- 10. Samme kort efter Befrugtningen; »orienteret« som i Fig. 9, samme Forst. Centralkjærnen maaske begyndt

Delingerne. a. Antipodeceller; c. Centralkjærne; s. og e. Kimblære og Synergider. Antipodecellerne ligge ikke mere i Bunden af Kimsækken (sml. Fig. 9); ved Præpareringen løsnede de enkelte Celler sig fra deres Plads, ved x.

Fig. 11. Toppartiet af Æghinderne i den ubefrugtede Frugtknude c. $\frac{250}{1}$; ie. ydre Æghinde; ii. indre Æghinde, hvis inderste Lag har delt sig; en. Ægkjærnens Overhud. Kalipræparat.

- 12. = Fig. 9 c. $\frac{250}{1}$. Bogstaverne som i Fig. 10. Protoplasmastrængene ere tegnede for tykke. En Antipode er falden ud af Præparatet.

- 13. Tværsnit af Frøhviden af et c. 4,5 Mm. højt Korn (Sml. S. 109) c. $\frac{70}{1}$. f. Fureegnen. (Bugsiden).

- 14. En Del af Fig. 13, c. $\frac{250}{1}$.

- 15. Længdesnit af Frugtknuden i samme Stadium c. $\frac{4}{1}$.

- 16. En Del af Frøhviden, (end), med nogle Antipodeceller, (a) h. $\frac{120}{1}$. Figuren svarer til Fig. 3 og 8 (S. 109).

- 17. a–g. Forskjellige Former af Cellekjærner i Delingsstadier (S. 109) c. $\frac{250}{1}$.

TAVLE II.

Fig. 1. Halvdelen af Frøhviden af et c. 5 à 5,5 Mm. langt Korn, Tværsnit, c. $\frac{70}{1}$. s. »Sammenvoxningslinie«; det yderste Lag Frøhvideceller have ved Furen (f) begyndt at differentiere sig. (Sml. S. 110).

- 2. En Del af Fig. 1, c. $\frac{250}{1}$. s. som i Fig. 1.

- 3. Tværsnit af Frøhviden i et 6 à 7 Mm. langt Korn c. $\frac{8}{1}$. s. »Sammenvoxningslinie«. De mørke Partier angive, hvor Stivelsekorn først kunne paavises.

- 4. Længdesnit af Kornet paa samme Stadium som Fig. 3. c. $\frac{4}{1}$. emb. Kimen; end. Frøhviden; e. Æggets Tilhæftningslinie.

- 5. En Del af Fig. 3 (ved m.), c. $\frac{250}{1}$. s. Sammenvoxningslinien, der forneden begrænser Figuren; o. de altid stivelsefri Frøhvideceller, endnu kun et Lag mægtige (undtagen nær Furen); Stivelse dannes i Cellerne nær s.

- 6. Celler med ganske unge Stivelsekorn. Præparatet behandlet med Klorzinkjod, c. $\frac{250}{1}$.

- 7. Længdesnit af et c. 8,5 Mm. langt Korn, c. $\frac{4}{1}$ skematiseret; emb. Kimen; end. ab. halvt udsugede Erøhvideheller, som snart fortrænges; p s. og p i. Avnerne, som nu begynde at hæfte ved Frugten; e. Æggets Tilhæftningslinie,

den senere »Pigmentstribe); n. Resten af Ægkjærnen, indenfor hvilken der er et langt Hulrum.

Fig. 8. Tværsnit af et liggende Korns Frøhvide. Brudstykke fra Kornets Side. c. $\frac{250}{1}$; o. som i Fig. 5.

- 9. Af et lignende Korns Frugtknudevæg. Tværsnit af et Parti nær Furen. Bogstaverne som i Tab. I, Fig. 8. (Sml. S. 112). c. $\frac{250}{1}$.

- 10. Tangential Snit af de stivelsefri, yderste Lag Frøhvideceller (sml. Fig. 8) c. $\frac{250}{1}$.

TAVLE III.

Fig. 1. Tværsnit af moden, kun svagt svulmet, Frøhvide i Kanadabalsam. Parti af Rygsiden. c. $\frac{250}{1}$; o. som i Tab. II Fig. 5. (Sml. S. 117).

- 2. Mediant Længdesnit af et modent Korn. c. $\frac{6}{1}$, skematiseret; e. »Pigmentstriben« (Tilhæftningsstedet). Forøvrigt Bogstaverne som i Fig. 6.

- 3. Tværsnit af Avne og Skal, Brudstykke. c. $\frac{250}{1}$; p. Avne; ep. & t. Frugt- og Frøskal.

- 4. Tangentialt Snit af de færdige, stivelsefri Frøhvideceller; Væggene, som de vise sig i svulmet Tilstand. Om Indholdet i Cellerne se S. 119.

- 5. Stivelseførende Celler fra Frøhvidens Omkreds. Stivelsen fjernet for at vise det protoplasmatiske Netværk. c. $\frac{360}{1}$. Sml. Fig. 8.

- 6. Furepartiet af et endnu grønt, temmelig vidt udviklet Korn (Fig. 7 f). Tværsnit, c. $\frac{21}{1}$; d. Karstræng; e. Æggets Tilhæftningssted; n. Rest af Ægkjærnen; o. de stivelsefri Frøhvideceller; p. Avne; h. saftfyldt Hulrum.

- 6 a. En Del af samme Parti af et fuldt udviklet Korn (Fig 7 g), Tværsnit c. $\frac{21}{1}$. Bogstaverne som i Fig. 6. h. viser sig nu kun som en smal Stribe. (Sml. S. 115).

- 7. a-g. Midtvejs førte Tværsnit af Korn i forskjellige Udviklingsstadier. c. $\frac{4}{1}$.

- 8. Netværk af en Stivelse førende Celle fra Frøhvidens dybere Egne; som Fig. 5.

Om Vedligeholdelse af konstant Temperatur.

Af

Lavrits Knudsen.

Naar man ved Opvarmning med Gas vil vedligeholde en meget konstant Temperatur, er det ikke tilstrækkeligt blot at anvende en Thermoregulator. For alle saadanne, der i Principet ere indrettede som Reichert's Thermoregulator (se Fresenius, Zeitschr. f. an. Chemie, 1872, pag. 35), ɔ: hvor et draabeflydende eller luftformigt Legeme ved sin Volumenforandring direkte, eller indirekte ved at virke paa en Kvægsølvsøjle eller et fast Legeme, varierer Udstrømningsaabningen for Gassen, gjælder nemlig, at naar der under Reguleringen finder en vexelvis Aabning og Lukning for Gassen Sted, vil den dermed følgende Tænding og Slukning af Lampen indtræde ved en højere Temperatur, naar Gastrykket er stort, end naar det er lille; og finder der under Reguleringen ikke en fuldstændig Lukning Sted, men blot en Indsnævring af Gastilstrømningsaabningen, maa Indsnævringen, forat bevirke den samme Forandring i Flammens Størrelse, drives videre ved det høje Tryk end ved det lave. Det ses altsaa, at i alle Tilfælde vil den Temperatur, hvormed Thermoregulatoren regulerer, ligge desto højere, jo højere Gastrykket bliver. Den eneste Thermoregulator, som i denne Henseende er uafhængig af Trykket, er den af Scheibler construerede (Fresenius Zeitschr. f. an. Chemie, 1868, pag. 88), men den kan næppe holdes i Orden i længere Tid. Selvfølgelig kan den ved det variable Gastryk, paa nævnte Maade bevirkede Forandring i Temperaturen, hvorved Thermoregulatoren regulerer, gjøres saa lillle, som man vil, ved Anvendelse af tilstrækkelig store Thermoregulatorer, hvilket dog sædvanligt er ubekvemt og bekosteligt. I saa Henseende have de Regulatorer, hvis Virkning bero paa luftformige Stoffers Udvidelse, og navnlig de, som bero paa Forandringen i

mættede Dampes Spænding med Temperaturen, et betydeligt Fortrin, idet de ikke behøve at gøres synderlig store forat gjøre det variable Gastryks Indflydelse forsvindende, men de lide alle af den Fejl, at være i høj Grad afhængige af Lufttrykket, hvorved de blive meget upaalidelige og aldrig ville kunne holde Temperaturen konstant i længere Tid.

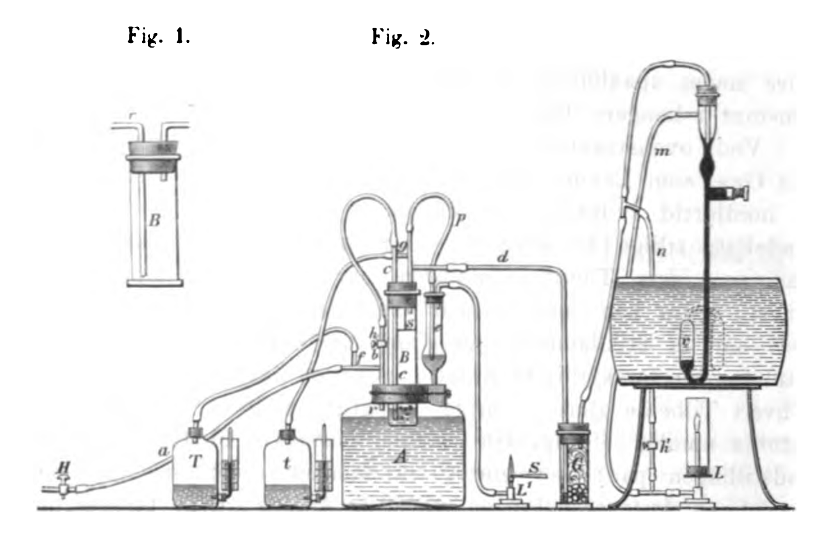
Ved ovenstaaende Betragtning er der kun taget Hensyn til den Gas, som Lampen modtager gjennem Thermoregulatoren. Det er imidlertid i Reglen nødvendigt, og i hvert Tilfælde altid tilraadeligt, tillige at anvende en Stikflamme, forat sikre sig at Lampen, hvis Thermoregulatoren har lukket for Gastilstrømningen, atter kan tændes, naar denne tillader Gassen at passere. Selv om da Stikflammen gjøres saa lille som muligt, vil den dog altid faa en forskjellig Indflydelse, eftersom Gastrykket varierer, og i hvert Tilfælde gjøre en meget nøjagtig Indstilling af Thermoregulatoren umulig. (Smlg. den nedenfor beskrevne Maade at foretage Indstillingen paa; her gjøres Stikflammen netop saa stor som muligt, og dette er netop en væsentlig Aarsag til, at Temperatursvingningerne blive saa smaa). Den Feil, som følger af Forandringerne i Stikflammens Størrelse, kan selvfølgelig ikke afhjælpes hverken ved at anvende Scheibler's Regulator eller ved at anvende store Regulatorer efter Reichert's Princip.

Som Exempel paa, hvilken Indflydelse en Forandring af Gastrykket kan have paa den Temperatur, hvorved en Thermoregulator regulerer, kan anføres følgende: En Reichert'sk Regulator af sædvanlig Størrelse, men hvor Sideaabningen i Tilledningsrøret var lukket (altsaa ingen Stikflamme), blev, idet Gastrykket holdtes konstant lig 4^{mm} Vandtryk, indstillet paa Temperaturen 53^0 C.; det viste sig da, at Temperaturen varierede mellem $52{,}75^0$ C. og $53{,}25^0$ C. Blev dernæst Gastrykket forandret til 15^{mm} Vandtryk, medens Regulatorens Indstilling forblev uforandret, holdt denne Temperaturen saaledes, at den svingede mellem $54{,}5^0$ C. og $55{,}5^0$ C. I begge Tilfælde brændte Gasflammen uafbrudt. Ved yderligere at opvarme forsigtigt med en anden Lampe, og derpaa atter lade en langsom Afkjøling foregaa, fandtes i første Tilfælde, at Regulatoren slukkede Lampen, naar Temperaturen var steget til $54{,}5^0$ C., og at Lampen atter tændtes, naar Temperaturen var faldet til 54^0 C. De tilsvarende Temperaturer i det andet Tilfælde vare: $55{,}75^0$ C. og $55{,}25^0$ C.

Det ses altsaa, at Gastrykket har en meget kjendelig Indflydelse, og at man, naar det gjælder om ved en saadan eller en lignende Regulator at holde Temperaturen nogenlunde konstant,

tillige er nødt til at holde Gastrykket uforandret. Dette kan opnaas ved det i Fig. 2 angivne Apparat.

Fig. 1. Fig. 2.



Principet for dette er følgende: Ledes Gas af p^{mm} Vandtryk gjennem Røret *r* ind i Glasset *B* (Fig. 1), og derfra til en Lampe, vil Trykket i *B* (q^{mm}) blive mindre end p, og Ligevægt vil være opnaaet, naar den Mængde Gas, der i en vis Tid og med et Differenstryk q^{mm} kan strømme ud af Lampens Brænderaabning, er lig den Mængde Gas, der i samme Tid og med et Differenstryk $(p - q)^{mm}$ kan strømme ud af Aabningen i Røret *r*. Stiger nu Trykket paa den tilstrømmende Gas til $(p + a)^{mm}$, og fyldes samsamtidig Vand i *B*, saa at Røret *r* er nedsænket a^{mm} heri, vil den Mængde Gas, der i Tidsenheden strømmer ud af Røret *r*, paa det nærmeste være bestemt ved Overtrykket ved *r*'s Munding, der er $(p + a) - a = p^{mm}$, altsaa det samme som før, og Trykket i *B* vil altsaa ogsaa i dette Tilfælde blive lig q^{mm}[1]). Opgaven er altsaa

---

[1]) Lægges Formlen for den theoretiske Udstrømningshastighed til Grund, vil Vægten af den i Tidsenheden af Røret *r* udstrømmende Gasmængde, selv om Trykdifferensen er den samme, være større, naar Trykket paa den tilstrømmende Gas er $(p + a)^{mm}$, end naar den er p^{mm}, idet Vægtmængderne ere proportionale med Kvadratrødderne af Vægtfylderne ved Trykkene $(p + a)^{mm}$ og p^{mm}. Disse ere imidlertid meget nær ligestore, saa at, selv om denne Betragtning gjordes gjældende, vilde Trykket q^{mm} i *B* kun voxe meget lidt derved. Jeg har ogsaa fundet, at kun naar Forskjellen mellem p og q er forholdsvis ringe, kan Forøgelsen af q ved en stærk Tilvæxt i p iagttages paa Trykmaalerne.

nu den at bevirke, at Vandet i *B* stiger ligesaa mange mm, som Gastrykket voxer. Dette opnaas paa følgende Maade: Beholderen *A* (Fig. 2), som er lufttæt lukket og næsten helt fyldt med Olie, staar gjennem *r* direkte i Forbindelse med Gasledningen, og gjennem *b*, der er forsynet med Hanen *h*, ledes Gassen videre ned i Røret *B*, der passende gjøres ca. $3\frac{1}{2}^{cm}$ vidt; efter her at have passeret et mere eller mindre højt Vædskelag, gaar Gassen gjennem *d* til Lampen. Glasset G, der er fyldt med Bomuld, stoppet løst, men dog saaledes, at der intetsteds findes store Canaler, gjennem hvilke Gassen kan komme til at passere, tjener kun til at holde de af Gassen medrevne Oliepartikler tilbage. I samme Øiemed kan hensigtsmæssigt tillige anbringes en Skjærm *s* i Røret *B*. Ledningerne af *a*, *r* og den Del af *d*, som ligger mellem *B* og *G*, bør gjøres tilstrækkelig vide (med en Lysning af 6^{mm}), de første, forat Forandringer i Gastrykket hurtigt kunde influere paa Trykket i *A*, den sidste, for at medrevne Oliepartikler ikke skulle bevirke en Forstoppelse. Idet *A*'s Diameter gjøres stor i Forhold til *B*'s, vil en Stigning af Gastrykket paa a^{mm} meget nær bringe Vædsken i *B* til at stige ligesaa meget, og at denne Forandring i Vædskestandenes Stilling kan ske, beror paa, at Trykket i *A* saa at sige øjeblikkelig voxer med Gastrykket, medens Trykket i *B*, paa Grund af Udstrømning af Gas gjennem Lampen, i Sammenligning dermed kun langtsomt kan forøges. Paa Grund af denne Forandring i Vædskestandenes Stilling, der indtræder saa at sige samtidig med Trykforandringen, vil, ifølge det foregaaende, en Trykforøgelse paa den tilstrømmende Gas ikke faa nogen Indflydelse paa Trykket af den Gas, der forlader Regulatoren.

Er Trykregulatoren sat i Forbindelse med en Lampe, som man ønsker skal brænde under et konstant Tryk, sker Indstillingen paa følgende Maade: Er det konstante Tryk, som ønskes, 5^{mm}, medens Minimum af Gastryk, som kan ventes at indtræffe, f. Ex. er 10^{mm}, da formindsker man ved Indskydning (ved Hjælp af T-rør) af en eller flere Lamper mellem Gashanen *H* og Trykregulatoren, samt ved at stille paa denne Hane, Trykket paa den Gas, der gaar til Trykregulatoren til 10^{mm}. Derpaa indstilles Hanen *h*, indtil Trykket paa den Gas, der forlader Regulatoren, er 5^{mm}, idet man stadig passer paa, at Trykket paa den Gas, der gaar til Regulatoren, ikke derved forandres; i saa Tilfælde maa der atter indstilles paa Hanen *H*. Har man saaledes opnaat, at Trykket paa den Gas, der gaar til Regulatoren, er 10^{mm}, medens den, der forlader den, har Trykket 5^{mm}, forøges det første Tryk f. Ex.

til 25^{mm}, og Røret c[1]) sænkes da ned i Olien, og hæves atter eller sænkes yderligere[2]), indtil Trykket paa den bortgaaende Gas igjen er 5^{mm}. Regulatoren er nu indstillet, og man kan da variere Trykket paa den tilstrømmende Gas fra 10^{mm} og opad, uden at Trykket paa den bortgaaende Gas derved forandres. De nævnte Tryk maales paa Trykmaalerne *T* og *t*, der staa i Forbindelse med de ellers ved Slange og Klemme lukkede Rør *f* og *g*.

Som Vædske i Regulatoren anvendtes i Begyndelsen Vand; dette fordamper imidlertid, hvorved Trykket paa den bortgaaende Gas i Tidens Løb forøges· Senere anvendtes Olivenolie, som ikke frembyder denne Mangel, og ved Hjælp af hvilken man i saa at sige ubegrændset lang Tid kan holde Trykket konstant.

Som Exempler paa, hvorledes Trykregulatoren arbejder, anføres følgende. I hvert af disse er der angivet det supponerede Minimumstryk paa den til Regulatoren strømmende Gas, og det konstante Tryk, paa hvilket den er indstillet. Tallene, der staa ud for *T*, angive Trykket paa den Gas, der gaar til Regulatoren, de tilsvarende ud for *t* Trykket paa den Gas, der forlader den. Tallene i Paranthes angive de Tryk, man vil faa, naar Trykregulatoren sættes ud af Virksomhed derved, at Røret *c* løftes ud af Olien.

I. Trykregulatoren blev sat i Forbindelse med en almindelig Bunsensk Lampe.

Ex. 1. Minimumstrykket: 5^{mm}; det konstante Tryk: 2^{mm}.
$T = 5^{mm}$ — 16^{mm} — 35^{mm} (35^{mm}) — 40^{mm} (40^{mm})
$t = 2^{mm}$ — 2^{mm} — 2^{mm} (10^{mm}) — 2^{mm} (12^{mm})

Ex. 2. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 5^{mm}.
$T = 10^{mm}$ — 35^{mm} (35^{mm}) — 44^{mm}
$t = 5^{mm}$ — 5^{mm} (12^{mm}) — 5^{mm}

Ex. 3. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 7^{mm}.
$T = 10^{mm}$ — 27^{mm} — 35^{mm} — 45^{mm} (45^{mm})
$t = 7^{mm}$ — $7\frac{1}{2}^{mm}$ — 8^{mm} — $8\frac{1}{2}^{mm}$ (25^{mm})

Ex. 4. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 2^{mm}.
$T = 10^{mm}$ — 30^{mm} — 35^{mm} (35^{mm})
$t = 2^{mm}$ — 2^{mm} — 2^{mm} (5^{mm})

Ex. 5. Minimumstrykket: 15^{mm}; det konstante Tryk: 10^{mm}.
$T = 15^{mm}$ — 30^{mm} — 36^{mm} (36^{mm}) — 46^{mm} (46^{mm})
$t = 10^{mm}$ — 10^{mm} — 10^{mm} (22^{mm}) — 10^{mm} (28^{mm})

---

[1]) Dette er forneden skraat afslebet under en Vinkel paa ca. 45°.

[2]) Proppen i *B* gjøres bedst af Kork, tættet med Lak eller Vox. Indgnides da Hullet til Røret *c* med Olie, lader dette Rør sig let bevæge, selv efter lang Henstand. Det samme gjælder om Røret *e* i »Ventilen« (se nedenfor).

II. Trykregulatoren blev forbunden med 3 Bunsenske Lamper, den ene med stærkt udvidet Brænderaabning:[1])

Ex. 1. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 2^{mm}.

$T = 10^{mm}$ — 30^{mm} (30^{mm}) — 40^{mm}
$t = 2^{mm}$ — 5^{mm} (5^{mm}) — 2^{mm}

Ex. 2. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 5^{mm}.

$T = 10^{mm}$ — 35^{mm} (35^{mm})
$t = 5^{mm}$ — 5^{mm} (12^{mm})

Ex. 3. Minimumstrykket: 10^{mm}; det konstante Tryk: 7^{mm}.

$T = 10^{mm}$ — 30^{mm} (30^{mm})
$t = 7^{mm}$ — 7^{mm} (18^{mm})

Ex. 4. Minimumstrykket: 15^{mm}; det konstante Tryk: 10^{mm}.

$T = 15^{mm}$ — 32^{mm} (32^{mm}) — 38^{mm}
$t = 10^{mm}$ — 10^{mm} (20^{mm}) — 10^{mm}

De øieblikkelige Svingninger i Gastrykket kan Regulatoren paa Grund af Oliens Tykflydenhed ikke hæve. Disse faa imidlertid heller ingen Indflydelse, naar Regulatoren skal anvendes til Opnaaelsen af konstant Temperatur, idet de maa antages at ophæve hinanden.

Indsnævres eller lukkes imidlertid Ledningen *d*, der fører Gassen bort fra Regulatøren, vil Trykket efterhaanden stige, i sidste Tilfælde indtil det bliver lig Trykket paa den tilstrømmende Gas. Dette vil altsaa finde Sted, naar der mellem Trykregulatoren og Lampen er indskudt en Thermoregulator, og denne delvis eller helt lukker for Gastilstrømningen til Lampen. Trykregulatoren vil da gaa helt ud af Virksomhed, og hvis der lukkes helt, vil Trykket paa den Gas, der strømmer til Thermoregulatoren, altsaa stige til det i Ledningen værende variable Tryk. Forat hindre dette, anbringes i saa Tilfælde en »Ventil«, idet Gassen, foruden at gaa gjennem *d* til Lampen *L*, tillige kan passere gjennem *e* til Lampen L^1. Røret *e*, der forneden er skraat afskaaret omtrent under en Vinkel paa 45^0, dypper i Olie til en Dybde forskjellig efter det konstante Tryk, man vil have paa den Gas, der gaar til Lampen *L*. Ved Stikflammen *S* sørges for, at den Gas, der maatte passere Ventilen, bliver forbrændt. Indsnævres da under disse Omstændigheder Udstrømningsaabningen i Thermoregulatoren, eller lukkes den helt, vil Gassen passere bort gjennem L^1, uden at Trykregulatoren gaar ud af Virksomhed, og altsaa uden at Trykket

[1]) Det er en Selvfølge, at Vidden af de Kanaler, Gassen skal passere, er bestemmende m. H. t. det Antal Lamper, Trykregulatoren kan forsyne med Gas af konstant Tryk.

paa den Gas, der gaar til Thermoregulatoren, stiger. Herved finder imidlertid et Tab af Gas Sted, der dog, naar det konstante Tryk ikke vælges højere end nødvendigt, og Omgivelsernes Temperatur ikke variere altfor meget, kun er meget ringe (se nedenfor). Da Lampen L^1 idelig slukkes og tændes, er det heldigt, som antydet paa Fig. 2, at tage Røret af; for saaledes at udelukke al Mulighed for at den skal slaa ned. For at gjøre Gassens Passage gjennem «Ventilen« saa let som mulig, maa L^1's Brænderaabning gjøres stor og med nogle Dages Mellemrum renses.

Som Thermoregulator har jeg anvendt et Apparat af den i Fig. 2 angivne Form. Det er i det væsentlige en Reichert'sk Regulator, blot med den Forskjel, at den Vædske, som ved sin Volumenforandring bevirker Reguleringen, er Vinaand, hvormed Beholderen *v* næsten er fyldt. Da Vinaand har en meget større Udvidelsescoefficient end Kvægsølv, vil en saadan Regulator, alt forresten lige, være meget mere fintfølende end en almindelig Reichert'sk Regulator, men den kan ikke gives den Form, som denne i Almindelighed har, nemlig saaledes, at den uden videre kan anbringes i en Prop, og selv i meget snævre Aabninger; her maa Aabningen være større, og Proppen, hvis en saadan behøves, maa være delt. Istedetfor en Beholder maa man hellere anvende to (saaledes som antydet paa Fig. 2 ved de punkterede Linier), der da til Gengæld kunne gjøres mindre i Diameter, hvorved der opnaas, at Regulatoren, uden at blive mindre fintfølende, lettere følger med Variationerne i Omgivelsernes Temprratur. Skal denne Form af Thermoregulator anvendes ved højere Temperaturer, kan Beholderen hensigtsmæssigt fyldes med Anilin.[1]) Lampen *L* faar dels Gas gjennem Thermoregulatoren, dels gjennem Ledningen *n*, der er forsynet med en Hane h^1, hvorved hindres, at Lampen helt kan slukkes. Flammen paa Lampen *L* bør beskyttes mod Luftstrømninger ved et tilstrækkeligt vidt Lampeglas, der ved Hjælp af en Prop anbringes paa Lampens Rør. I denne Prop maa der naturligvis findes tilstrækkelig store Aabninger for Tilførsel af atmosfærisk Luft. For at hindre Lampen i at slaa ned, er det hensigtsmæssigt omtrent midt i dennes Rør at anbringe et lille Stykke Messing-

---

[1]) Disse Regulatorer forfærdiges af Hr. Glasinstrumentmager Jacob i Kjøbenhavn. Fyldningen maa foregaa paa Stedet, men frembyder ingen Vanskelighed. Tilledningsrørene, hvoraf jeg anser det for heldigt at have flere med forskjellig Diameter, kan man let selv forfærdige. I Spidsen slibes de med en Fil, befugtet med Terpentinolie, ganske lidt skraat af.

traadnet, som ved en rund Stok bankes op i det. For yderligere Sikkerheds Skyld kan man, naar Flammen kun er meget lille, tillige lukke Lufthullerne forneden i Lampens Rør, eller man kan anvende en Lampe som L^1 ɔ: uden Rør. Forat faa tilstrækkelig stor Flamme ved et svagt Gastryk, kan det være nødvendigt at udvide Brænderaabningen i Lampen.

Indstillingen af Thermoregulatoren i Forbindelse med Trykregulatoren sker paa følgende Maade: Slangen *m* lukkes med en Klemme, saa at Lampen kun kan faa Gas gjennem h^1, som er helt aaben; efterat derpaa tillige Slangen *p* er lukket med en Klemme, indstilles Trykregulatoren paa det Tryk, som antages nødvendigt, men som dog maa ligge noget under Gassens Minimumstryk. Derpaa aabnes for Gassens Udgang gjennem *p*, og medens man med Fingrene lukker for *n*, sænker man Røret *p* saa dybt i Olien, som ske kan, uden at Trykket paa den bortgaaende Gas derved stiger. Vandbadet fyldes derpaa med Vand af den Temperatur, som ønskes vedligeholdt, og naar man da ved at stille paa h^1, maaske tillige i Forbindelte med at nærme eller fjerne Lampen fra Vandbadet, har opnaaet, at den Mængde Gas, som Lampen faar ad denne Vej, selv ved den højeste Temperatur i Lokalet, ikke kan vedligeholde Vandets Temperatur, men dog kun tillader denne at falde meget langsomt, jo langsommere desto bedre, aabnes for Slangen *m*, og Trykregulatoren indstilles atter paa det konstante Tryk, svarende til den saaledes forøgede Udstrømningsaabning. Dernæst fyldes Vand i Vandbadet, indtil Temperaturen i dette er mindst lige saa mange Grader over den Temperatur, hvorved Regulatoren skal regulere, som Temperaturen i Lokalet kan antages at falde om Natten, og har man da overbevist sig om, at Lampen *L* ved Forsyning med Gas baade gjennem *m* og *n* er istand til yderligere at drive Temperaturen op, tages en Del af det varme Vand op og erstattes med koldt, indtil Temperaturen er den forlangte, hvorpaa Thermoregulatoren indstilles. Kan Lampen, naar den forsynes med Gas baade gjennem *m* on *n* ikke give saa megen Varme, som er nødvendig, maa Brænderaabningen udvides og muligvis tillige Tilledningsrøret i Thermoregulatoren ombyttes med et andet med større Udstrømningsaabning. For at undgaa overflødigt Tab af Gas, bør Tilledningsrøret ikke vælges videre end nødvendigt. Forat Ventilen kan virke tilfredsstillende, maa Røret *e*'s Diameter være lig Diametren af Udstrømningsaabningen i Thermoregulatoren, eller hvis flere saadanne ere satte i Forbindelse med samme Trykregulator, mindst lig Summen af Udstrømningsaabningerne. Røret *e*'s Dia-

meter kan dog paa Grund af Oliens Adhæsion til Glasset ikke godt gjøres under ca. 4^{mm}.

Naar Kvægsølvet i Thermoregulatoren i Løbet af ca. 8 Dage er blevet anløben paa Overfladen, vil Temperaturen i Badet stige ganske lidt (ved den af mig anvendte Regulator omtrent $\frac{1}{40}$° C.), og, hvis man lod den yderligere henstaa, efterhaanden mere. Denne Stigning kan, saa snart den mærkes, hurtig afhjælpes, idet man blot behøver at dreje Skruen, hvormed der indstilles, tilbage, saa at Kvægsølvet træder helt ned i Udvidelsen, og derpaa strax atter frem. Den samme Indstilling som før opnaas let ved at iagttage Flammens Størrelse før og efter Dreiningen af Skruen. Foretages dette, medens Regulatoren helt eller næsten lukker for Gastilstrømningen, er det bedst, for at undgaa en for stærk Opvarmning, samtidigt at knibe Slangen *m* helt sammen med Fingrene. At Slangerne, der anvendes, ere gjorte godt rene indvendigt, er aldeles nødvendigt, selv om der anvendes sort Kautschukslange.

I et Forsøg havde det anvendte Vandbad en Diameter lig 22^{cm} og en Højde lig 16^{cm}; 1^{cm} fra Bunden var anbragt en Mellembund, hvis Diameter var 18^{cm}, og som i Midten havde en Aabning paa 4^{cm} i Tversnit. Det var fyldt med Vand til 1^{cm} fra Overkanten. Thermoregulatorens Beholder var 9^{cm} lang og 16^{mm} tyk. Vandet var dækket med et tyndt Lag Olie, men forresten var Vandbadet aldeles ikke isoleret. Temperaturen maaltes dels ved et fast Thermometer, anbragt saaledes, at dets Beholder befandt sig i den halve Højde af Thermoregulatorens, og dels ved andre løse Thermometre, der iforvejen vare nøjagtigt sammenlignede med det faste. Alle Thermometrene angave $\frac{1}{10}$° C., og hver Inddeling svarende hertil var omtrent 1^{mm}. Thermoregulatoren blev indstillet paa 45,5° C. Temperaturen holdt sig da i Løbet af 1 Maaned saa konstant, at den højest varierede $\frac{1}{10}$° C., og ved de løse Thermometre fandtes Temperaturen paa de mest forskjellige Steder i Badet kun at afvige omtrent $\frac{1}{20}$° C. fra den, som Thermometret i Midten angav. Ved et andet Forsøg, hvor den konstante Temperatur var 36° C., men hvor Vandet ikke var dækket af et Olielag, erholdtes en ligesaa konstant og ensartet Temperatur i Vandbadet, naar dettes Vandstand holdtes konstant ved Hjælp af en Mariottes Flaske[1]). En saadan er det dog ogsaa heldigt at

[1]) Ifølge hvad der ovenfor er sagt om Indstillingen, kunde Stikflammen i dette Tilfælde ved det valgte konstante Gastryk (5^{mm}) ikke vedligeholde Temperaturen 36° C. i Vandbadet. Lukkes imidlertid for *m*, og forøges Gastrykket til 10^{mm}, drev Stikflammen i Løbet af ca.

anvende, selv om Vandet er dækket af et Olielag. Under disse Forsøg varierede Gastrykket i hvert Døgn fra ca. 12^{mm} til ca. 55^{mm} Vandtryk, og Temperaturen i Lokalet mellem ca. 12° C. og 22° C. Det supponerede Minimumstryk paa den til Trykregulatoren gaaende Gas var 10^{mm} Vandtryk, og det konstante Tryk paa den Gas, der forlod denne, var 5^{mm}. Ved et Forsøg, hvor paa en Gang 3 saadannne Thermostater bleve forsynede med Gas paa 5^{mm} Vandtryk fra samme Regulator, og hvor de konstante Temperaturer laa mellem ca. 35° C. og ca. 50° C., beløb den Mængde Gas, der i Døgnet gik bort gjennem Lampen L^1, sig højest til 9 Kubikfod.

Sættes flere Vandbade i Forbindelse med samme Mariottiske Flaske, maa man under Indstiltingen af et enkelt af disse sætte dette ved en Klemme ud af Forbindelse med den Mariottiske Flaske og de andre Vandbade, da der ellers ved den under Indstillingen foregaaende Forandring i Vandstanden vil løbe Vand fra det ene Bad over i det andet, hvilket baade virker forstyrrende paa Indstillingen og paa de andre Vandbades Temperatur. Selvfølgelig maa man efter Indstillingen sørge for, at Vandstanden i Badet er den, der vedligeholdes af den Mariottiske Flaske. Naar en Gjenstand skal anbringes i Badet, bør den iforvejen være opvarmet til en Temperatur nær den, som findes i dette, og ved Borttagelse af Vand bør man sørge for, at Vandstanden forbliver uforandret. Skal omvendt en Gjenstand, som er anbragt i Vandbadet, tages op, bør dette midlertidigt sættes ud af Forbindelse med den Mariottiske Flaske og først atter forbindes med denne, efterat man har fyldt op med Vand af den Temperatur, som holdes i Badet, indtil den Vandstand er naat, som vedligeholdes af den Mariottiske Flaske. Iagttages disse Ting, finder der aldeles ingen Forstyrrelse Sted i Thermostatens Gang, Jo større en Thermostat er, desto mindre nødvendigt bliver det at iagttage saadanue Forsigtighedsregler, og desto mindre Fordringer stilles der til Reguleringen af Blusset.

Om Trykregulatoren i Forbindelse med Thermoreguleringen ved en nøjagtig Indstilling kan holde Temperaturen ligesaa konstant, naar denne overstiger 50° C., har jeg ikke havt Lejlighed til at undersøge, men ved Anvendelse af tilstrækkelig Isolering er der ingen Grund til at antage dette.

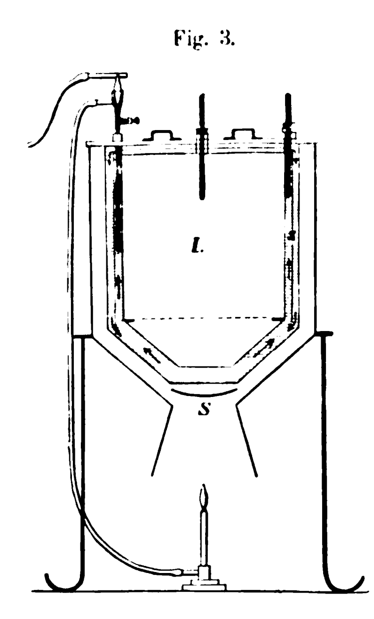
Ej heller har jeg prøvet, hvorledes Forholdene stille sig i et

---

2 Timer ved dette Tryk Temperaturen op til 44° C. Det sees altsaa, at Gastrykket ved at forandre Stikflammens Størrelse kan faa en meget betydelig Indflydelse paa Temperaturen.

Luftbad. Her vil sikkert Indbringelsen af nye Gjenstande, alt forresten lige, virke mere forstyrrende paa Badets Temperatur, end hvis dette er fyldt med Vand. Ligeledes vil Omgivelsernes Temperatur faa mere Indflydelse, saa at det sikkert her altid bliver nødvendigt at anvende Isolering. En hensigtsmæssig Form af et saadant Luftbad er den i sine Hovedtræk i Fig. 3 angivne, hvilken kun er en lidt ændret Form af Horstmann's Thermostat (Annalen der Oenologie, Bd. III, pag. 4). *L* er den Luftmasse, hvis Temperatur skal holdes konstant; den er omgivet af en Kappe med Vand. Formen, som denne har forneden, tilsigter at lette Vandets Circulation, og Skjærmene *s* tvinge dette til at passere i den ved Pilene angivne Retning; derved kommer det yderste Vandlag tillige til at virke isolerende. Isoleringen sker iøvrigt kun ved Luft. For at Vandet let kan circulere, bør Vandlagets Tykkelse ikke gjøres for ringe; en Tykkelse paa ca. 4^{cm} vil være passende. For at Væggene bedre kunne modstaa det ikke ubetydelige Vandtryk, gjøresThermostaten bedst cylindrisk. Bundene maa afstives mod hinanden ved paaloddede Blikvinkler. Heldigt er det ogsaa at anvende saadanne mellem de cylindriske Vægge. Ved Anbringelsen af disse Vinkler maa man sørge for saa lidt som muligt at hindre Vandets Cirkulation. Da det yderste Vandlag virker isolerende, behøves der paa Siderne og forneden kun et enkelt isolerende Luftlag, ca. 2^{cm} tykt. I Laaget anvendes der hensigtsmæssigt 2—3 Luftlag, hver paa $\frac{1}{2}^{cm}$ — 1^{cm} Tykkelse. Skjermen *S* er af temmelig tykt Jern og tjener blot til at beskytte Bunden mod direkte at paavirkes af Flammen. Et billigt og hensigtsmæssigt Materiale til et saadant Luftbad er forblyet Jern, som for yderligere at beskyttes mod den skadelige Indvirkning af Forbrændingsprodukterne fra Gassen kan males med Menniefarve. Carlsberg Laboratoriet ejer et stort Exemplar af en saadan, som blot ved Anvendelse af en almindelig Reichert'sk Regulator holder Temperaturen meget konstant.

Fig. 3.



Istedetfor de paa Fig. 2 angivne sammensatte T-rør kan selvfølgelig anvendes almindelige T-rør forbundne med Kautschukslange.

Apparatet kan saaledes sammensættes med hvad der findes i ethvert Laboratorium.

Den Mangel ved Trykregulatoren, at den, for at regulere Trykket, maa formindske det, har den tilfælles med alle hidtil bekjendte Apparater af lignende Art. Naar man imidlertid blot anvender tilstrækkelig store Brænderaabninger, kan man i Almindelighed ligesaa godt arbejde med et ringe Gastryk, som med et stort.

En anden Mangel er den, at Trykregulatorens Indstilling maa forandres efter Udstrømningsaabningens Størrelse. Er den derfor allerede i Forbindelse med en Thermoregulator, som er i Gang, kan den ikke uden videre forbindes med en ny saadan. Den maa, som antydet, indstilles paany. Dette sker da paa den ovenfor beskrevne Maade (dog bemærkes, at ved »Ventilen« er der intet at forandre), idet man til Indstillingen vælger det Øieblik, da den førstnævnte Thermoregulator frembyder Maximum af Udstrømningsaabning.

HVOR RINGE EN INFEKTION AF »VILD GJÆR« KAN EFTER HANSENS METHODE PAAVISES I EN UNDERGJÆRMASSE AF SACCHAROMYCES CEREVISIÆ?

AF

JUST CHR. HOLM OG S. V. POULSEN.

Af Hr. Dr. Hansens Undersøgelser over »Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe« (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B., 2 Hefte, 1883, p. 93, og Zeitschr. für das ges. Brauwesen, München 1884, p. 273), fremgaar det, hvor stor en Indflydelse en Indblanding af saakaldet »vild Gjær« i den almindelige Bryggeri-Undergjær kan have.

Det er derfor af største Betydning at kunne paavise en saadan Indblanding, og hertil er Askosporedannelsen hos Gjærcellerne for Øjeblikket det eneste analytiske Middel.

Idet vi henvise til ovennævnte Forfatters Hovedafhandling herom (II B., 2 Hefte), skulle vi her kun erindre om, at det er dels den forskjellige Tid, i hvilken de forskjellige Arter ved en vis bestemt Temperatur udvikle deres Askosporer, dels hver enkelt Arts Maximums- og Minimumstemperatur, som betinger Askosporedannelsens analytiske Anvendelse (se ogsaa denne Forfatters Afhandling, I B., 4 Hefte, 1882, p. 400—401, Anm.). Desforuden har Hr. Dr. Hansen til forskjellig Tid mundtlig meddelt os og sine andre Elever her paa Laboratoriet Oplysninger om dette Spørgsmaal, og det er navnlig paa Grundlag heraf, at Planen til vore efterfølgende Experimenter blev lagt.

Ved enhver analytisk Methode er dens Finhed af stor, ofte af afgjørende Betydning; det laa derfor nær i dette Tilfælde at bestemme, hvor ringe Mængder »vild Gjær« man er i Stand til at paavise som Indblanding i Hovedgjærmassen.

Dyrkningsforsøgene for at bringe Gjærcellerne til at udvikle Askosporer ere udførte ved Hjælp af Gibsblokke og med unge, kraftige Celler (se den citerede Afhandl. II B. 2 Hefte, p. 65).

Til Forsøgene anvendtes som Hovedgjærmasse en Undergjærform af S. cerevisiæ (Bryggeriets rene Gjær Nr. 1), den Art, hvorpaa Gl. Carlsbergs Bryggeriers og et større Antal andre, navnlig nordiske, Bryggeriers Drift er baseret; som Indblandingsgjær anvendtes følgende vilde Gjærformer:

S. Pastorianus I.
S. Pastorianus III.
S. ellipsoideus II.

Disse findes beskrevne i sidstnævnte Afhandling, p. 68 og flgd.

Af alle 4 Former benyttedes udelukkende Renkulturer. At ovennævnte vilde Gjærformer valgtes, har sin Grund i, at disse ifølge Dr. Hansens Forsøg fremkalde Sygdomme i Øllet (Tykhed og bitter Smag), og da de ere de eneste, hvorom dette er vist, var der ingen særlig Anledning til at prøve andre. Ved 25° C. danne disse Anlæg til Askosporer allerede efter 25—28 Timer, medens Bryggeriets rene Gjær Nr. 1 ved samme Temp. først efter 5 Døgn udvikler yderst faa eller som oftest slet ingen. Her er altsaa en betydelig Forskjel. — Hvis alle Cellerne i en Gibskultur gave Askosporer, vilde vor Undersøgelse være overflødig, alt var da allerede i Forvejen givet i Dr. Hansens Afhandlinger; dette er imidlertid ikke Tilfældet, thi der bliver altid et vist Procentantal, som under de givne Forhold ikke udvikle disse Formeringslegemer; hvor stort dette Procentantal er, derom foreligger der til Dato ingen Undersøgelse.

Gjæren avledes i Pasteurske Kolber ($^1/_2$ og $^1/_8$ Liter), halv fyldte med steriliseret Siposeurt (c. 14 % Ball.); fra de større fik vi c. 5 Kub.-Cent., fra de mindre 2—3 Kub.-Cent. temmelig tykflydende Gjær. Udbyttet varierede ikke saa lidt, og navnlig spillede det en Rolle, hvor fast Gjæren laa. Ligger den nemlig løst, gaar en ikke ringe Mængde tabt ved Afheldningen af Urten. Dette var navnlig Tilfældet med de vilde Arter, hvorfor ogsaa Gjærmassen fra disse undertiden blev noget tyndere end fra S. cerevisiæ.

Efterat der i disse Pasteurske Kolber var avlet unge, kraftige Celler ved 1 Døgns Kultur ved c. 25° C., heldtes næsten alt Øllet fra, og med den tiloversblevne Rest rystedes Bundgjæren op. Denne heldtes op i steriliserede Glas, der vare dækkede med steriliserede Glasplader. Der sørgedes for, at den vundne Gjærmasse fra de forskjellige Arter var saavidt muligt af samme Koncentration. Ved Hjælp af steriliserede Pipetter, der i deres øvre Ende vare for-

synede med steriliserede Vatpropper, afmaaltes dernæst den Mængde, man ønskede. Var Talen f. Ex. om en Gjærblanding med 5 % vild Gjær, toges 10 Kub.-Cent. af S. cerevisiæ og $^1/_2$ Kub.-Cent af vild Gjær; til en Gjærblanding med 1 % vild Gjær toges 10 Kub.-Cent. af S. cerevisiæ og $^1/_{10}$ Kub.-Cent. af den vilde Gjær ɔ: med den Rørpipette, vi benyttede, 2 Draaber o. s. v. Gjærblandingerne samledes i steriliserede Glas og omrørtes der omhyggeligt, inden de udsaaedes paa Gibsblokkene.

Det vilde blive for vidtløftigt og er tillige unødvendigt at omtale udførligt alle de Forsøg, vi anstillede, da de alle foregik paa samme Maade, idet naturligvis kun den indblandede Gjærs Mængde var forskjellig i de forskjellige Tilfælde. Vi begyndte med en Indblanding af 10 % vild Gjær. Fra hver Blanding fremstilledes 2 Gibsblokkulturer (6 i alt), derefter udsaaedes til yderligere Sikkerhed paa 2 andre Gibsblokke en Blanding af S. cerevisiæ og alle 3 vilde Arter. Som Kontrol endelig henstilledes samtidig Renkulturer paa Gibsblokke af de omtalte 4 Arter hver for sig. Disse 12 Gibsblokke bleve stillede i en Thermostat ved 25 ° C. og undersøgte efter c. 40 Timers Forløb. Resultatet var, at Vegetationerne paa Blokkene med Renkulturerne af de vilde Arter indeholdt talrige Celler med Askosporer, og at de 8 Blokke med 10 % Indblanding indeholdt mange, men at Blokken med Renkultur af S. cerevisiæ ikke indeholdt en eneste. Vi fremhæve, at der saavel i disse som i de andre Forsøg bestandig ved Kontrolprøve med S. cerevisiæ blev givet fuld Sikkerhed for, at de iagttagne Askosporer ikke stammede fra denne, men fra Sygdomsgjæren.

Et ganske lignende Forsøg anstilledes med en Indblanding af 5 % og med samme Resultat.

Derefter forsøgtes en Indblanding af 3 % vild Gjær, altsaa c. $^1/_{33}$ af hele Gjærmassen. Her blev 8 Gibsblokke med denne Indblanding af de 3 vilde Arter hensatte i Thermostaten ved 25° C. og undersøgte efter c. 2 Døgns Forløb. Resultatet var, at der uden Vanskelighed paavistes Celler med Askosporer. Forsøget gjentoges med samme Resultat.

Paa lignende Maade anstilledes en Række Forsøg med en Indblanding af 2 % og 1 %, hvor altsaa henholdsvis kun $^1/_{50}$ og $^1/_{100}$ af Gjærmassen var vild Gjær; ogsaa ved denne ringe Indblanding var Resultatet, at Celler med Askosporer uden Vanskelighed lode sig paavise efter c. 2 Døgn. Naturligvis var der en ikke ringe Forskjel i Antallet af Celler med Askosporer i de mikroskopiske Præparater, som toges fra de forskellige Blokke med samme Indblandingsprocent; dette er uundgaaeligt ved et

Forsøgsobjekt som Gjær, hvor hverken Koncentrationen eller den afmaalte Mængde af de forskjellige Arter i den Forstand kan blive nøjagtig den samme som f. Ex. Afvejninger paa analytisk Vægt af et dødt, kemisk Stof. Vi have bestræbt os for, at Koncentrationen af de forskjellige Arter var saavidt muligt ens; dog var, som allerede ovenfor bemærket, Gjærmassen, som hidrørte fra de vilde Arter, stundom tyndere end Gjæren fra S. cerevisiæ, hvilket vil sige, at Indblandingen snarere har været under end over den i ethvert Tilfælde angivne; Methoden er altsaa rimeligvis endnu finere end her angivet.

Fremdeles anstilledes et Forsøg (8 Gibsblokke) med Indblanding af $^1/_2$ %, hvor altsaa $^1/_{200}$ af Gjærmassen var vild Gjær. Det lykkedes ogsaa her efter 44 Timer at paavise enkelte Celler med Askosporer i alle Kulturerne med Sygdomsgjær; kun ved et Par af disse var det nødvendigt at tage flere Præparater, inden Celler af Askosporer fandtes. Forsøget gjentoges med samme Resultat.

Man kunde naturligvis ved anstillede Forsøg paavise en endnu ringere Indblanding, idet man ved at tage mange Præparater fra hver Kultur og ved at gaa dem nøje igjennem vilde kunne finde en enkelt eller nogle ganske faa Celler med Askosporer, men da det er uden praktisk Betydning, have vi bestemt at standse her.

Det maa ogsaa siges at være et for Methodens praktiske Brugbarhed tilfredsstillende Resultat, vi have opnaaet, nemlig med Sikkerhed at kunne paavise en saa ringe Indblanding af »vild Gjær« som $^1/_{200}$ af hele Gjærmassen. Vi behøve i saa Henseende kun at henvise til Dr. Hansens ovenciterede Afhandling om »Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe«, hvor det er paavist, at naar S. Pastorianus III eller S. ellipsoideus II kun udgjøre $^1/_{41}$ af Paasætningsgjæren, og Gjæringen og Lagringen af Øllet foregaar efter den i gode Bryggerier almindelig brugte Fremgangsmaade, vil den Sygdom (Gjærtykhed), som de ved Tilstedeværelse i større Mængde frembringe, ikke indtræde. For disse Arters Vedkommende er det da mere end tilstrækkeligt at kunne paavise en Indblanding af $^1/_{200}$.

Af Interesse for Analysens Udførelse i Praxis er ogsaa den Hurtighed, hvormed Resultatet kan opnaas. Af Forsøg, som anstilledes i den Retning med en Indblanding af henholdsvis 2 % og 1 %, fremgaar, at man vel allerede efter 30 Timer kan finde ganske enkelte Celler med Askosporer, men at de dog først efter 40 Timer optræde i nogenlunde

rigelig Mængde. Det vil altsaa være det heldigste at oppebie dette Tidspunkt for Undersøgelsen.

Askosporedannelsen kan naturligvis ligeledes anvendes til at afgjøre, om andre Gjærracer end den foran behandlede ere inficerede med Sygdomsgjær eller ej. Bestemmelsen foregaar dog ikke i alle Tilfælde ved samme Temperatur, og der kræves altsaa her en særskilt experimentel Behandling, før Reglen med alle dens Enkeltheder kan gives; dette forbeholde vi os at give Oplysning om i en senere Meddelelse.

UNDERSØGELSER OVER ALKOHOLGJÆRSVAMPENES FYSIOLOGI OG MORFOLOGI.

AF

EMIL CHR. HANSEN.

V.

METHODER TIL FREMSTILLING AF RENKULTURER AF SACCHAROMYCETER OG LIGNENDE MIKROORGANISMER.

I Laboratoriets Tidsskrift for 1882 og 1883 offentliggjorde jeg nogle Oplysninger om de Methoder, jeg efterhaanden i Aarenes Løb havde udarbejdet til med Sikkerhed at erholde Renkulturer af Saccharomyceter. Da Arbejdsmaaden kun i de store Træk var omtalt, blev jeg fra flere Sider gjentagne Gange opfordret til at give en udførlig Fremstilling af alle Enkeltheder, en Vejledning for de med saadanne Arbejder endnu Ukyndige til med Sikkerhed og nogenlunde Lethed selv at kunne udføre dem [1]). Grunden til, at jeg først nu imødekommer dette Ønske, er, at andre vigtigere Arbejder hidtil have lagt Beslag paa min Tid, og at jeg forinden Udgivelsen ønskede paany at prøve Et og Andet for at kunne give en saa god og fuldstændig Vejledning som mulig.

Ifølge Sagens Natur maa en saadan komme til at indeholde Beskrivelser af en Mængde Smaating, men da det netop er deraf, det Hele opbygges, have de Krav paa Opmærksomhed. Efterstaaende Meddelelser udgjøre en Del af de gjæringsfysiologiske

---

[1]) Der indløber ligeledes temmelig ofte Forespørgsler til mig om de Apparater, der anvendes ved de gjæringsfysiologiske Experimenter i Carlsberg Laboratorium. I den Anledning meddeles herved, at de, forsaavidt de ere af Glas, i Almindelighed erholdes hos Hr. Instrumentmager Jacob, Gothersgade 30 i Kjøbenhavn.



Kursus, som jeg med Bestyrelsens Billigelse i de sidste Aar har afholdt her paa Laboratoriet for fremmede Naturforskere.

Naar vi fremstille en Renkultur af en eller anden Mikroorganisme, da forbinde vi dermed i Almindelighed det Øjemed enten at erholde udviklingshistoriske og morfologiske Oplysninger eller at anstille fysiologiske Experimenter. I første Tilfælde er det Væxt- og Formforandringer, vi ønske at iagttage, og Undersøgelsen bliver derfor naturlig knyttet til Mikroskopbordet. Ved direkte Iagttagelse forfølge vi f. Ex. en Svampespores Spiring og dens fortsatte Udvikling, indtil den derved fremkomne Plante atter selv har dannet Sporer. Det er værd at lægge Mærke til, at der hertil ingen Massekultur kræves, man søger endog at undgaa den, og der kræves ej heller en absolut Renkultur. Om der er nogle enkelte fremmede Organismer tilstede, faar nemlig ingen Indflydelse, forudsat at de blot ikke i kjendelig Grad forulempe den, hvis Udvikling vi ville studere, og at deres Udseende er tilstrækkeligt forskjelligt fra dennes, saa at en Forvexling ikke kan finde Sted.

Helt anderledes er det med det fysiologiske Experiment; dette anstilles i de fleste Tilfælde udenfor Mikroskopbordet og for en stor Del uden mikroskopisk Kontrol og fordrer alene af den Grund netop absolut Renkultur, som oftest tillige en Massekultur. Det er kun om denne Art Rendyrkninger, at det Følgende handler.

Vejen, ad hvilken en Renkultur under alle Omstændigheder vil kunne opnaas, ligemeget hvilke fysiologiske og morfologiske Egenskaber vedkommende Mikroorganisme er i Besiddelse af, frembyder sig af sig selv, nemlig Udsæd af een eneste Celle i en i Forvejen steriliseret Næringsvædske paa en saadan Maade, at fremmede Organismer ikke under Dyrkningen kunne snige sig ind. Ligesaa simpel Tanken er, ligesaa store vare de Vanskeligheder, som maatte overvindes, førend Problemet kunde siges at være nogenlunde løst. Talrige Forskere i vor Tid have givet Bidrag dertil, den ene sluttende sig til den anden; Spring findes ikke i denne Udvikling. I de sidste Aar ere Bestræbelserne navnlig gaaede ud paa at gjøre Arbejdet lettere og hurtigere, undertiden paa Sikkerhedens Bekostning.

Mine første Rendyrkninger bleve fremstillede ved Hjælp af en Fortyndingsmethode. Til Cellerne blev der nemlig sat et saa stort

Rumfang steriliseret Vand, at 2 Kub.-Cent. af denne Vandblanding, naar de vare jævnt fordelte deri, skulde indeholde 1 Celle. Af en Række Udsæd, hver paa 1 Kub.-Cent., skulde altsaa kun hveranden bringe en Celle med sig. Paa denne Maade have f. Ex. Nägeli og Fitz fremstillet Renkulturer af Bakterier. Allerede den theoretiske Betragtning viser dog, at man ikke herved alene kan erholde Sikkerhed. Spørgsmaalet bliver da, paa hvilken Maade, det er muligt at skjelne de Kolber, der hver have modtaget flere Celler, fra dem, der hver kun have modtaget een Celle. Til Afgjørelse heraf fandt jeg en vigtig Karakter i Antallet af de dannede Gjærpletter. Overføres nemlig *n* Gjærceller i en Kolbe med Næringsvædske, og rystes derefter Kolben for at fordele Cellerne, saa ville de, efterat Vædsken er kommen i Ro, lejre sig paa Bunden og her danne *n* Pletter. Naar disse have opnaaet en bestemt Størrelse, kunne de med Lethed iagttages med det blotte Øje og tælles. De Kolber, i hver af hvilke kun een Gjærplet har udviklet sig, have ogsaa hver kun modtaget een levende Celle. (Den udførlige Begrundelse heraf findes i min Afhandling fra 1883, p. 55.)

Dette var det nye Bidrag, som mine Studier bragte til Methodens Udvikling paa dette Punkt. Der opnaaedes herved en større Sikkkerhed, end der hidtil var kjendt. Om Manipulationerne er der intet Væsentligt at tilføje til det allerede meddelte. (Se Afsnittet »Methoder«, p. 51—57.)

Et væsentligt Fortrin ved denne Methode bestaar deri, at man fra det Øjeblik af, at det virkelig er lykkedes i en Kolbe med Næringsvædske at erholde Udsæd af een eneste Celle, da ogsaa med det Samme har Betingelserne for en Massekultur uden Fare for Infektion udenfra. Men Methoden er kostbar, idet der navnlig kræves et stort Antal Kolber dertil; den fordrer endvidere større Arbejde, større Øvelse og større Omhu end den nedenfor beskrevne. Dette har bevirket, at den nu kun i enkelte Tilfælde benyttes. Har man f. Ex. en Blanding af forskjellige Gjærarter, hvoraf nogle ere kraftige, andre svækkede, og man netop ønsker at isolere de sidste, da vil der som Regel ikke være andet at gjøre end atter at ty tilbage til den. Saadanne Celler komme nemlig som oftest slet ikke til Udvikling i Næringsgelatine (det Substrat, som anvendes ved den følgende Methode), men derimod med større Lethed i Næringsvædsker. Navnlig ved Analyser af Mikroorganismer i Jord har jeg ofte havt Lejlighed til at gjøre disse Erfaringer.

Som bekjendt fremstilles i de sidste Par Aar i Almindelighed Renkulturer af Bakterier efter Koch paa følgende Maade: I flydende Næringsgelatine anbringes nogle af de Celler, hvoraf man ønsker Renkultur, og man søger derpaa saa vidt muligt ved Rystning at fremkalde en jævn Fordeling af dem. Blandingen gydes ud paa en steriliseret Glasplade, som derefter opbevares i et fugtigt Rum ved passende Temperatur, og efterhaanden udvikle de i den stivnede Gelatine indstøbte Celler Vegetationer. Det er imidlertid af sig selv indlysende, at man ikke har Sikkerhed for, at hver af de i Næringsgelatinen udviklede Vegetationer er dannet af een eneste Celle. Forskjellige Arter af Bakterier kunne imidlertid give Pletter af forskjelligt Udseende, Heri haves altsaa undertiden et vigtigt Hjælpemiddel. Et saadant mangler imidlertid hos Saccharomyceterne; vil man altsaa af disse fremstille Rendyrkninger, maa man tage Sagen paa en anden Maade. Dette har jeg udført, idet jeg i Stedet for at anbringe Gelatinekulturen paa en almindelig Glasplade, anbringer den paa den nedadvendte Side af et Dækglas, som fæstes til et fugtigt Kammer (Böttcher's); og ved direkte mikroskopisk Iagttagelse sikrer jeg mig, at de Vegetationspletter, som jeg senere benytter til Fremstilling af Massekultur, virkelig stamme hver fra een eneste Celle.

Det er denne Modifikation af Kochs Methode, som nu hyppigst anvendes her paa Carlsberg Laboratoriet og ligeledes i de inden- og udenlandske Anstalter, der efter det herfra givne Mønster beskjæftige sig med for den store Industri at fremstille ren Gjær af udvalgte Racer og med Studiet af Gjærsvampe overhovedet. Om Methodens Begrændsning o. s. v. se min Afhandling fra 1883, p. 57—63. I det Følgende gives den lovede udførlige Fremstilling af alle de derved forekommende Arbejder og de dertil hørende Apparater.

I. Forberedelserne: Som ved andre lignende Experimenter sørges der for, at der er en saavidt mulig støvfri og altsaa kimfri Luft tilstede; hvis det lader sig gjøre, aflaases Værelset en Tid i Forvejen, for at Luften kan komme i Ro. Et lille Arbejdsrum med næsten kimfri Luft kan erholdes ved Hjælp af en Kasse, der netop er saa stor, at man kan føre Armene derind og med tilstrækkelig Frihed bevæge dem derinde; der kræves endvidere, at Kassen faar godt Lys udenfra, og at den har en Skydedør til at trække lodret op i den Højde, man ønsker. Man vadsker det indvendige Rum overalt med steriliseret Vand, lader Kassen derpaa staa aflukket nogen Tid i det Værelse, hvor den skal benyttes, og trækker da forsigtig Skydedøren op. Det Exemplar, Laboratoriet

ejer, har en Højde af 56, en Brede af 63 og en Dybde af 50 Centim. indvendigt Maal. Døren saavel som Loftet og de tre Sider bestaa af store Glasruder i solide Trærammer, medens Bunden er fuldstændig af Træ. Naar Døren er trukken ned, kan den aflaases. I flere Tilfælde vil det maaske være bekvemmere at have en lignende Kasse med mindre Dimensioner. De følgende Beskrivelser gaa imidlertid bestandig ud fra, at Arbejderne udføres i et almindeligt Værelse uden saadant Hjælpemiddel.

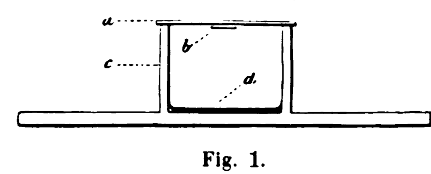


Fig. 1.

Følgende Apparater benyttes: Et Par Pincetter, en halv Snes tynde Glasstænger, 2—3 fugtige Kamre (Böttcher's) med Ringe paa 30 Millim. i Diameter, nogle hertil passende Dækglas og 2—3 Platintraadstykker, hvert 1½ Centim. langt og ½ Millim. tykt, nogle Glasplader og Glasklokker. Fig. 1 er et lodret Gjennemsnit af det nævnte Kammer i en formindsket Maalestok; *a* er Dækglasset, paa hvis Underside, *b*, den i det Efterfølgende beskrevne Dyrkning foregaar; *c* er Kammerets Ring; *d* er et Vandlag, der er anbragt paa Bunden for at hindre Fordampningen. Alle disse Gjenstande maa være flammerensede ved Hjælp af en Gas- eller Spiritusflamme, eller, hvad der er heldigere, indsvøbte i flere Lag Filtrerpapir, steriliserede i en Varmekasse (2 Timer ved 150° C.). Før Brugen maa en tilstrækkelig Afkjøling naturligvis have fundet Sted. Den frie opadvendte Rand af de fugtige Kamres Ring bestryges med Vaseline, og der anbringes lidt steriliseret Vand i deres Bund.[1]) Platintraadstykkerne lægges paa en lille Glasplade saaledes, at de med Lethed kunne gribes med en af Pincetterne, og dækkes med en Glasklokke; det Samme gjælder om Dækglassene og Kamrene.

Et Vandbad paa 30—35° C. holdes i Beredskab tilligemed et Stativ til at fastholde de nedenfor nævnte Chamberland-Kolber (Fig. 2) deri. Af disse fordres et Par (hver paa c. 30 Kub.-Cent.) halvfyldte med steriliseret Vand og et Par halvfyldte med Næringsgelatine; de flammerenses paa deres Overflade og stilles under en Glasklokke, indtil de skulle bruges. De ere, som Fig. 2 viser, lukkede med en tilsleben Glashætte, hvis tynde Rør er fyldt med steriliseret Bomuld. Som Næringsgelatine benyttes 5 % Ge-

---

[1]) Til at fastgjøre Ringene paa Objektglasset kan anbefales en Opløsning af Gelatine i Iseddike, hvortil kort før Brugen sættes fint pulveriseret kromsurt Kali, ligeledes Jensen's Glaslim, Frederiksborggade 20 i Kjøbenhavn.

latine i klar, humlet Urt (c. 14 % Ball.). (Den har vist sig at være god ogsaa i de Tilfælde, hvor man foretager Udsæd af Alkoholgjærsvampe, som ikke kunne forgjære Maltose, f. Ex. Sacch. apiculatus, Sacch. exiguus og et Par Arter, der i Formen ligne sidstnævnte, men som ikke udvikle Endosporer). En ringere Tilsætning end 5 % Gelatine er ikke tilraadelig, hellere derover. I Stedet for Urten kan ogsaa anvendes en Næringsvædske, bestaaende af 10 % Dextrose-Opløsning, hvortil der er sat saa meget Gjærvandsafkog, at det Hele faar en tydelig gul Farve. Naar Næringsgelatine i det Følgende omtales, er derved bestandig tænkt paa den førstnævnte.

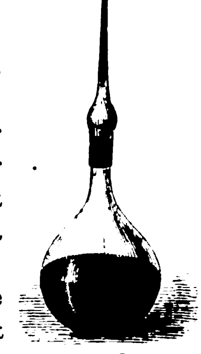


Fig. 2.

2. Fremstillingen af Renkulturen: Kolberne med Næringsgelatinen opvarmes forsigtig, saa at Indholdet netop bliver flydende, og de anbringes derefter i Vandbadet. Som Udgangspunkt for Renkulturen benyttes helst en Vegetation af unge, kraftige Celler; en ringe Mængde deraf udrøres i en af Chamberland-Kolberne med det steriliserede Vand, saaledes at dette bliver svagt uklart. Ved Omrystning søger man derpaa at erholde en, saavidt mulig, jævn Fordeling af Cellerne, og naar dette er sket, tages ved Hjælp af Glasstængerne Draaber til mikroskopisk Undersøgelse. Saavel ved denne som ved de i det Følgende omtalte mikroskopiske Undersøgelser benyttes en saa svag Forstørrelse som mulig, det vil sige, et Objektiv og et Okular, ved Hjælp af hvilke man endnu netop er i Stand til med Sikkerhed at kunne tydeligt skjelne Cellerne fra tilstedeværende andre Smaalegemer. Herved opnaas det størst mulige Synsfelt, og Undersøgelsen foregaar hurtigere. Benyttes et Mikroskop fra Zeiss i Jena, da anbefales Okular Nr. 1, Objektiv DD og indskudt Tubus. Hensigten med den berørte mikroskopiske Prøve er at erholde et Skjøn over, hvor rig Blandingen er paa Celler. Efter at denne paany er bleven tilstrækkelig omrystet, dyppes et af Platintraadstykkerne deri og overføres hurtigt i en af Kolberne med den flydende Næringsgelatine. Saavel ved dette som ved de senere Forsøg paa at fremkalde en jævn Fordeling af Cellerne søger man at undgaa Dannelse af Skum. Næringsgelatinens Temperatur maa ikke overstige 35 ° C.; man ønsker overhovedet kun, at den skal kunne holde sig flydeude. Har man ved den mikroskopiske Prøve fundet, at Vandblandingen er rig paa Celler, dypper man Platintraaden kun i meget ringe Grad ned deri, f. Ex. 2 Millim.; er det Modsatte Tilfældet, dyppes den derimod dybere ned.

Ved Omrystning af den inficerede Gelatine søger man at erholde en jævn Fordeling af de deri værende Celler. Derpaa tages med en af de steriliserede Glasstænger Draaber til mikroskopisk Undersøgelse. For at denne kan blive tilstrækkelig paalidelig, maa man lave to Præparater; stemme disse overens, har man Grund til at antage, at Cellerne ere blevne jævnt fordelte, og at man har erholdt Gjennemsnitsprøver. Her maa det da afgjøres, om Næringsgelatinen har modtaget et passende Antal Celler eller ej; begaas en grov Fejl i den Retning, er alt det senere Arbejde spildt. Betingelsen for, at Fordelingen af Cellerne i Næringsgelatinen er en saadan, at Renkulturer med Sikkerhed kunne erholdes, er, at de senere fremkomne Vegetationspletter have tilstrækkelig Plads, saa at ingen Sammensmeltning af flere kan finde Sted eller idetmindste ikke hyppig finder Sted. Ved denne Kontrol ønske vi derfor at erholde Oplysning om Cellernes Fordeling, først og fornemlig dog om Afstanden mellem Celle og Celle. Benytte vi sædvanlige mikroskopiske Præparater til denne Prøve, maa det ikke glemmes, at Cellerne i den Gelatine, der skal anvendes til Forsøget, i Virkeligheden ligge hverandre meget nærmere end i disse Præparaters stærkt fladtrykte Draaber. Der kræves overhovedet megen Øvelse for heraf at kunne drage en nogenlunde sikker Slutning. Dette opnaas derimod ved at tage Draaber af den Beskaffenhed (Størrelse, Form o. s. v.), som vi senere ville anvende. Disse anbringes paa almindelige Objektglas eller bedre paa Objektglas med indætsede Kvadrater og da paa selve Indætsningen. Kvadraterne give os nemlig Holdepunkter for den mikroskopiske Undersøgelse, hvorved den følgelig bliver lettere og sikkrere. Dækglas anvendes ikke, og man kan godt foretage Undersøgelsen strax, medens Gelatinen endnu er flydende.

Det er, som foran berørt, en Erfaringssag, at Celler, som i Næringsvædsker kunne vise Livstegn, i flere Tilfælde ikke gjøre det i Næringsgelatine. I Sammenhæng hermed staar, at som oftest ikke alle de i Gelatinen udsaaede Celler komme til at danne Vegetationspletter; alligevel vil Begynderen i Almindelighed finde, at disses Antal overstiger Antallet af de af ham ved Forsøgets Begyndelse iagttagne Celler, idet nemlig flere af de sidstnævnte undgik hans Opmærksomhed. Den Fejl begaas overhovedet hyppigst, at der udsaas et for stort Antal Celler.

Er den ønskede Art i Overvægt i den Gjærmasse, der benyttes som Udgangspunkt, da arbejder man bedst med et ringe Antal Celler i vedkommende Næringsgelatine; finder derimod det Modsatte Sted, maa man foretage Forsøget med et saa stort Antal

Celler, som Fremstillingen af en Renkultur overhovedet tillader; dette gjælder ogsaa, hvis vor Opgave gaar ud paa ved eet Forsøg samtidig at erholde Renkulturer af flere oprindeligt sammenblandede Arter. I de sidstnævnte Tilfælde kræves naturligvis en dobbelt Agtpaagivenhed, idet Faren for, at en Vegetationsplet kan være dannet af flere Arter paa een Gang, da er større, end naar vedkommende Gjærmasse fra Begyndelsen bestod af den ønskede Art i Overvægt.

Viser Kontrollen os, at der er udsaaet enten for faa eller for mange Celler, maa vi i det ene Tilfælde føje flere Celler, i det andet mere Gelatine til, alt efter forudgaaet Beregning. Finde vi f. Ex., at der er dobbelt saa mange Celler tilstede i vor Blanding, som vi ønske, erholdes den rette Fortynding ved at tilsætte en ligesaa stor Portion Gelatine som den allerede tilstedeværende, og ønskes omvendt et dobbelt saa stort Antal Celler, som der allerede findes, opnaas dette ved for anden Gang at foretage en lignende Infektion som den første; hertil hører naturligvis, at vi have bemærket, hvor dybt Platintraaden ved den første Infektion blev sænket i Blandingen af Vand og Celler.

Have vi sikkret os dette vigtige Punkt, overføres hurtigt en passende Portion af vor inficerede Næringsgelatine paa de Dækglas, der skulle benyttes; disse dækkes strax hver med sin lille Klokke. Er Bordpladen, hvorpaa de ligge, kun nogenlunde vandret, behøves ingen særlig Indstilling derfor. Det er en Selvfølge, at Gelatinen stadig holdes flydende i Vandbadet, og at Cellerne deri fordeles jævnt ved Rystning. Som ovenfor fremhævet, søger man at undgaa Skumdannelse. Efterat Dækglassene have modtaget deres Næringsgelatine, heldes største Delen ud af Kolben, saa at der paa dennes Bund kun bliver et tyndt Lag tilbage. Hensigten dermed er en dobbelt: Ved at henstille denne Kolbe med sin Gelatinerest under de samme Temperaturforhold som Dækglassene, kunne vi paa en let og sikker Maade erholde Besked om, hvornaar Gelatinen paa disse er stivnet; naar det er sket i Kolben, vil det nemlig ogsaa være Tilfældet med Draaberne paa Dækglassene. Endelig skal denne Gelatinerest tjene os som en Art Reserve, hvis Kulturerne i Kamrene skulde mislykkes, hvilket dog, naar der arbejdes paa en fornuftig Maade, ikke let vil kunne ske. At de i Kolben udviklede Pletter ikke med Sikkerhed kunne tages som Renkulturer, erindres. Ved almindelig Stuevarme plejer den Næringsgelatine, hvorom Talen her bestandig er (5 % Gelatine i humlet Urt af c. 14 % Ball.), at stivne i Løbet af næppe et Kvarter; ønsker man, at det skal ske hurtigere, kan Isafkjøling

anvendes. Aarsagen til, at den flydende Gelatinedraabe strax anbringes hvilende paa Dækglasset og først, efterat den er stivnet, i hængende Stilling, er den, at man saaledes lettere uden Fare for at forstyrre Kulturen kan fæstne Dækglasset til den med Vaseline bestrøgne Rand af Ringen i det fugtige Kammer; desuden maa det vel antages, at Draaben paa den Maade bliver lidt mindre hvælvet; men nogen iøjnefaldende Forskjel er der i hvert Fald ikke. Det Samme gjælder ogsaa om de Draaber, der stivne langsomt ved Værelsets Temperatur og hurtigt ved Isafkjøling.

Saasnart Gelatinen er stivnet, gjøres Dækglasset fast til den nævnte Ring saaledes, at Kulturen nu kommer til at vende nedad. Ved forsigtigt Tryk paa de Steder af Dækglasset, der berøre Ringen, sørger man nøje for, at der finder en fuldstændig Forbindelse Sted, saa at Kamrets Rum allevegne afspærres fra Omverdenen. For at Dækglasset, hvis det berøres, ikke skal kunne glide, anbringes desuden paa to eller tre Punkter lidt smeltet Segllak.

3. Kontrollen paa Mikroskopbordet: De saaledes færdige Kamre blive nu undersøgte ved Hjælp af den tidligere omtalte svage Forstørrelse, kun i tvivlsomme Tilfælde anvendes stærkere Objektiver. De første Undersøgelser gaa ud paa at iagttage, om Cellerne overalt ligge saaledes, at særskilte Vegetationspletter kunne udvikle sig fra hver enkelt af dem; er dette Tilfældet, er hermed hele Kontrollen færdig. Ofte vil man dog finde, at der er Partier af Præparatet, som ikke yde en saadan Sikkerhed; disse maa da afgrændses. Dette kan ske ved med en fin Pensel at sætte Mærker med hvid Gummifarve ovenpaa vedkommende Dækglas. Ikke sjelden er Cellernes Fordeling en saadan, at det bliver nødvendigt at indstille paa enkelte bestemte Celler og forfølge disses Udvikling. Til denne Kontrol kan man paa Mikroskopbordet, til Højre og Venstre, anbringe Mærker, f. Ex. Krydsstreger, og paa Kamrets Objektglas tilsvarende dækkende Mærker, saaledes at man derved bestandig kan finde tilbage til det ønskede mikroskopiske Billede. Det var paa denne Maade, at jeg i Begyndelsen arbejdede; senere har Will hertil anvendt Dækglas, paa hvis ene Side han ved Hjælp af Flussyre har indætset talrige Linier, som skjære hverandre under rette Vinkler, saaledes at der fremkommer et stort Antal smaa Kvadrater med 1 Millim. Side, og af disse ere de to sammenstødende Yderrækker numererede. Disse Tal og Linier yde fortrinlige Støttepunkter. Hr. Alfred Jørgensen har mundtlig meddelt mig, at han i sine Forsøg bestandig fandt, at det var mest praktisk at indføre Tallene hver i sit Kvadrat; de tjene da ikke blot til at betegne bestemte Kvadrater, men Figurerne, som de danne, yde

tillige en god Hjælp til lettere at gjenfinde den Celle, hvis Udvikling man vil forfølge. Man kan anbringe Gelatinen saavel paa den ene som paa den anden Side, Undersøgelsen bliver dog vistnok lettest, naar det sker paa selve Indætsningen. I den nyeste Tid have vi her paa Laboratoriet ligeledes med Held benyttet Objektmærkeren[1]). Dette Apparat skrues paa Tubus i Stedet for et Objektiv, og ved Mikroskopets sædvanlige Skruebevægelse føres det derpaa forsigtig ned til Dækglasset, hvor det ved en temmelig let Berøring afsætter en farvet Ring og herved omgrændser et i Forvejen opsøgt Punkt. Ringens Diameter er 1,5 Millim.; hvis den var mindre, vilde man ved Undersøgelser som de foreliggende have endnu større Nytte deraf. Et bevægeligt Mikroskopbord med Inddelinger vil ogsaa kunne anvendes i ovennævnte Øjemed. Opgaven er i alle Tilfælde at forvisse os om, at de Vegetationspletter, vi senere benytte til vore Massekulturer, virkelig ere absolut rene Kulturer, d. v. s., hver stamme fra een eneste Celle. Det hidtil udførte Arbejde fra hele Forsøgets Begyndelse til dette Punkt plejer for en nogenlunde øvet Experimentator at tage henved 3 Timer.

Efterat vi saaledes have sikkret os Udgangspunkterne, stilles Kamrene og Chamberland-Kolben med sin Gelatinerest ind i Thermostaten ved 24—25° C. Hvis man ikke har en saadan, kunne de ogsaa blive staaende i Værelset ved almindelig Stuevarme. Har man flere Kamre paa een Gang i Arbejde, er det praktisk at skyde dem ind i et dertil indrettet lille Stativ saaledes, at de i dette komme til at danne Hylder i forskjellige Højder, dog uden at berøre hverandre. Hvis der er et Mikroskop tilovers, kan man naturligvis ogsaa skrue et Kammer fast paa dets Bord og indstille paa den Celle, hvis Vegetation man ønsker at benytte; det er da meget let Skridt for Skridt at følge Udviklingen. (Se min Afhandling, II Bd., 2 Hefte, 1883, p. 61.) Det Samme opnaas ligeledes, omend med lidt mere Besvær, ved Tid efter anden at tage Kamrene ud og indstille dem efter Mærkerne. I alle de Tilfælde, hvor der er Tvivl, bør man ikke undlade at foretage en saadan Kontrol. Kontrollen vil imidlertid som Regel være let og ikke kræve stor Anstrengelse, naar man kun har arbejdet med en rigtig Fortynding og overhovedet paa rette Maade. Hvad der udmærker denne Fremgangsmaade er, at man her Intet overlader til Tilfældet, men sikrer sig hvert Skridt. Det er endvidere et stort Fortrin, at vi uden at forstyrre eller at udsætte vore Vegetationer for Infektion udenfra kunne undersøge dem saa

---

[1]) Klönne & Müller, Prinzenstr. 71. Berlin.

ofte, vi ønske, og ikke blot med svage, men tillige med stærke Objektiver. Herved bliver det ogsaa muligt at anstille udviklingshistoriske Iagttagelser, som ere af Vigtighed for vor Erkjendelse af de Species, hvormed vi experimentere.

Under de foran beskrevne Forhold træde tydelige, for det blotte Øje let kjendelige Vegetationspletter frem efter henved 2 Døgns Henstand, naar Gelatinekulturerne have staaet ved 24—25° C., og efter 3 Døgns, hvis de have staaet ved almindelig Stuevarme. Dette gjælder om alle de hidtil her paa Laboratoriet studerede Saccharomyceter og saccharomyceslignende Celler, Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ, Pasteur's Torula o. s. v. Hos Saccharomyceterne og de fleste af de øvrige nævnte Former have Pletterne da nærmest Form og Størrelse som meget smaa Knappenaalshoveder og lys graagul Farve; undertiden faa de et voxagtigt Udseende, Overfladen kan være tør eller lidt glindsende; Randen viser sig ved svag Forstørrelse temmelig skarpt afgrændset eller laadden. Alle disse Differencer kunne findes hos eet og samme Species og i den samme Kultur, navnlig gjør det en Forskjel, om Pletterne have udviklet sig i tykkere eller tyndere Gelatinelag.

Temmelig tydelig forskjellige fra de foregaaende ere Pletterne af Mycoderma vini og Myc. cerevisiæ samt nogle dermed beslægtede Arter. De fuldstændig gjennembrudte Pletter ere nemlig her lysegraa med et tørt Udseende og hindeagtigt udbredte, ofte skaalformigt fordybede. Saa længe de endnu ere dækkede af Gelatinehinde, ligne de Pletter af Saccharomyceter. Ofte er den dækkende Hinde saa tynd, at man har stor Vanskelighed ved at opdage den, og man kan da let falde i den Vildfarelse at antage, at der her findes en anden Art end den, der er tilstede i de først beskrevne Pletter.

I Gelatinelaget paa et af vore Dækglas kan der optræde 60 Vegetationspletter, og selv om kun Halvdelen af disse kan benyttes, hvilket undertiden indtræffer, kan et eneste Kammer dog altsaa give os et stort Antal Renkulturer.

4. Vegatationspletternes Renkulturer overføres i en Næringsvædske: Det er her endnu vigtigere end ved de foregaaende Arbejder at have en rolig, ren Luft og fuldstændig steriliserede Apparater. De almindelige Forberedelser ere de samme. Et Par Pincetter og de foran beskrevne Platintraadstykker holdes i Beredskab, og for saavidt man fra samme Dækglas skal benytte flere end een Plet, kræves der tillige et passende Antal smaa Klokker med tilhørende Glasplader. Til den fortsatte Dyrkning anvendes her paa Laboratoriet i Almindelighed Pasteur's tohalsede

Kolbe (1/8 Liter) med steriliseret humlet Urt (c. 14 % Ball.). I Fig. 3 ses en saadan Kolbe i formindsket Maalestok, staaende paa en Korkbrix. Det tynde Rør er i sin Spidse lukket med en Asbestprop; paa det rette Rør er anbragt en Kautschukslange, som atter lukkes med en Glasprop. Hvis Forsøget har til Opgave at give Renkultur af kun 1 Species, bruges hertil 4—5 af disse Kolber. Det store Antal har til Hensigt at sætte os i Stand til at opnaa en Art Kontrol ved at sammenligne de i Kolberne dannede Vegetationer og ligeledes at sikre os, at vi virkelig erholde en Udvikling af de udsaaede Celler. Ved Uheld kan det nemlig blandt Andet ske, at en Kolbe bliver angreben af fremmed Infektion, og ligeledes, at der slet ingen Vegetation fremkommer deri, f. Ex., hvis den ved Infektionen benyttede Platintraad var for varm.

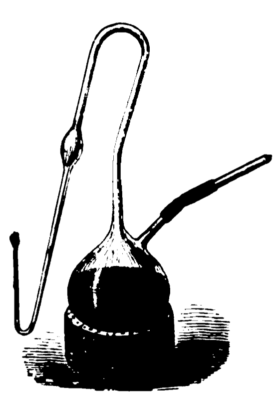


Fig. 3.

Kamrene undersøges med Mikroskopet; vi opsøge de Vegetationer, hvis Udgangspunkter vi i Forvejen have garanteret os, for at faa Sikkerhed for, at de Pletter, vi agte at benytte, hver stammer fra een Celle. Med en spids Pensel og lidt af den hvide Farve omgrændses derefter paa selve Dækglasset de udvalgte Pletter; have vi ved Forsøgets Begyndelse anvendt Klönne & Müller's Objektmærker, er dette naturligvis overflødigt.

Et af Dækglassene løsnes derpaa hurtigt fra sin Ring og lægges med Pletterne opadvendt, helst paa en mørk Bund, at de kunne træde tydeligt frem. Ved Hjælp af en af Pincetterne tages med højre Haand et Platintraadstykke, og efterat det er blevet rask ført gjennem en i Nærheden værende Gas- eller Spiritusflamme, berøres en af de udvalgte Pletter. Skal Dækglasset oftere benyttes, maa det naturligvis hver Gang strax dækkes med en af de smaa Klokker. Med venstre Haand fjærnes Kautschukslangen fra en af de Pasteurske Kolber, og i det samme Nu føres med den anden Haand det inficerede Traadstykke hen til det blottede Rørs Munding, hvori man lader det glide ned. Røret sænkes derpaa saa skraat nedad, som det kan ske, naar Vædsken ikke skal flyde ud, og føres samtidig hermed ind i Flammen for her igjen at lukkes med sin Kautschukslange. I Stedet for den omtalte Kolbe kan man ogsaa anvende Chamberland's eller Salomonsen's Model; hin er afbildet Fig. 2, p. 157; denne har en snævrere

Munding end hin og i Stedet for Glashætten et Kautschukrør, hvis øverste Parti ogsaa er fyldt med steriliseret Bomuld; i nogle Tilfælde kunne de sidstnævnte Kolber endog være at foretrække. Ved visse Lejligheder vil man ligeledes med Fordel kunne benytte Kogeflasker som hosstaaende Fig. 4, godt overbundne med et Par Lag steriliseret Filtrerpapir. Til Experimenter med Alkoholgjærsvampe er i Følge fleraarig Erfaring Pasteur's gamle Kolbe i Almindelighed den bedste. Opgaven er under alle Omstændigheder at arbejde med Sikkerhed og saa hurtigt som muligt. For ikke at bringe Luften i større Uro end nødvendigt, venter man med at ryste de inficerede Kolber, indtil de alle ere færdige. Hvad den Pasteurske Kolbe angaar, foretages dens Rystning naturligvis kun, idet man samtidig gløder det tynde bøjede Rør, da man ellers ikke har nogen Sikkerhed for, at den indtrængende Luft steriliseres. Undersøgelsen af Kamrene og Udvælgelsen af de mikroskopiske Pletter samt Inficeringen af 5 Kolber med, hvad der overhovedet hører hertil, tager for een Mand c. 1 Time.



Fig. 4.

Efterat vore Kolber ogsaa ere blevne forsynede med Etiketter, stilles de helst ind i en Thermostat ved 25—28° C. I Løbet af 1—2 Døgn iagttages da en tydelig Udvikling, og efter 2 Døgns Forløb er som Regel Gjæringen i fuld Gang, og en temmelig stor Gjærmængde dannet. Dette gjælder vel navnlig om Saccharomyceterne, men ogsaa i det Hele om de fleste af de i denne Afhandling nævnte Arter; hos Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ og flere dermed beslægtede Former optræde dog som bekjendt ikke saadanne Gjæringsfænomener.

Indtil det Punkt, hvor vi aabne Kamrene, udmærker dette Forsøg sig ved sin absolute Sikkerhed, men saasnart Aabningen finder Sted, indtræder med det Samme Usikkerheden, idet nemlig en Infektion fra vore Klæder, idet vi bevæge os, fra Luften o. s. v. da bliver mulig og saa meget desto farligere, eftersom vi endnu ikke have erholdt en Massekultur af kraftige Celler til at optage den mulige Konkurrence med fremmede Rivaler: I denne Henseende staar denne Methode tilbage for den af mig først udarbejdede (p. 154). Bedst vilde det i Følge ovenstaaende være, kun at benytte een Plet fra hvert Dækglas.

For imidlertid ej heller her at arbejde paa Slump og i Blinde, kunne vi i den samme Tid, vi anvende til at foretage Infektionen af vore Kolber, henstille nogle aabnede Kogeflasker med vid Mun-

ding og indeholdende steriliseret Urt ligesom Kolberne, og, naar disse ere færdige, lukke Flaskerne ved Overbinding med et Par Lag steriliseret Filtrerpapir samt derefter ligeledes stille dem ind i Thermostaten ved 25—28 ° C. Paa denne Maade erholdes Oplysning om Luftens Indhold i det nævnte Tidsrum af saadanne Mikroorganismer, som kunne udvikle sig i den benyttede Næringsvædske. I min foran citerede Afhandling har jeg allerede vist, at denne Fare i Reglen ikke vil være stor, naar man arbejder i et renligt Værelse med rolig Luft. Senere blev der anstillet temmelig talrige Analyser paa den ovenfor beskrevne Maade; disse gave det Resultat, at der af 3 Flasker i Gjennemsnit bleve 2 inficerede. Denne Infektion bestod udelukkende af Penicillium glaucum; i intet Tilfælde optraadte Bakterier eller Gjærceller.

5. Undersøgelsen af Kolbernes Gjærvegetationer og Udvælgelsen af det eller de ønskede Species: Det blev i det Foregaaende meddelt, at vi under de angivne Dyrkningsforhold ville erholde en Massekultur efter c. 2 Døgn. For saa vidt vi ved Overførelsen af Cellerne fra Vegetationspletterne til Kolberne have undgaaet fremmed Infektion, vil enhver af disse ogsaa indeholde en Renkultur. Nogen Oplysning om dette i den beskrevne Methode svage Punkt kunne de foran omtalte Kogeflasker give os; ligeledes de i det Efterfølgende berørte Analyser. Af hver Kolbe tages nu med tilbørlig Omhu en Prøve til mikroskopisk Undersøgelse. De Kolber, hvis Celler stemme nøje overens, ville ogsaa i de fleste Tilfælde indeholde samme Species. Her maa det imidlertid erindres, at de Differenser, som under de angivne Forhold kunne optræde, i Reglen ere smaa, og at der kræves stor Øvelse for at bemærke dem. Nogen egentlig Sikkerhed giver den mikroskopiske Prøve for sig alene ikke, den bør derfor forbindes med de andre, som staa til vor Raadighed, hvad enten disse ere af botanisk eller kemisk Art. Ved Analysen af Saccharomyceterne spille, som det ses af mine Afhandlinger, Askosporernes Udviklingsgang og Hindeformerne en vigtig Rolle.

Det er saaledes blevet vist, hvorledes Renkulturer af Saccharomyceter og lignende Mikroorganismer paa en sikker og forholdsvis let Maade kunne fremstilles. Modifikationer heri ere naturligvis bestandig mulige, Hovedopgaven bliver imidlertid under alle Omstændigheder den samme. I det Foranstaaende er der meddelt de Erfaringer, som gjennem fleraarigt Arbejde ere indvundne her paa Laboratoriet. Der er lagt Hovedvægten paa, at ethvert Ar-

bejde udføres med Sikkerhed og under stadig Kontrol. Efter det Forbillede, Pasteur fremfor nogen Anden har givet i sine Værker, og som Enhver, der har besøgt hans berømte Laboratorium, der har set virkeliggjort, har jeg ønsket at indprænte, hvor vigtigt det er at arbejde med Forsigtighed og Omhu, og at enhver Forsyndelse herimod straffer sig.

Skjøndt disse Meddelelser, som allerede berørt, i Følge deres Natur nærmest ere beregnede for Begyndere, antager jeg dog, at ogsaa den mere øvede Experimentator vil kunne have nogen Nytte deraf, og for mine Elever ville de være et Erindringsord til, hvad jeg mundtlig har meddelt dem.

Der staar tilbage at give Oplysning om, hvorledes de erholdte smaa Portioner af absolut ren Gjær anvendes til at avle de store Masser, som Industrien benytter, om hvorledes man foretager Udvælgelsen af en passende Race, og om hvorledes den under Experimenterne maa behandles, for at et gunstigt Resultat strax kan opnaas. Herom maa jeg dog opsætte at give en udførlig Meddelelse til en anden Gang og indskrænke mig til at henvise til det, jeg allerede har offentliggjort om disse Spørgsmaal. Aarsagen hertil er, at nye Forbedringer i en nær Fremtid forhaabentlig ville blive gjennemførte. I Løbet af 1885 have nemlig Hr. Bryggeridirektør Kühle og jeg arbejdet paa at faa et Apparat indrettet i selve Gjæringskjælderen til en uafbrudt Fremstilling af absolut ren Gjær i det Store saaledes, at omtrent hvert 10de Døgn en stor Portion af denne Gjær føres ud i Driften. Herved vil altsaa den ældre, noget urene Gjær med korte Mellemrum blive afløst af absolut ren Gjær. Disse Forsøg ere ved denne Afhandlings Afslutning i Novbr. 1885 imidlertid ikke bragte til Ende. De Læsere, som allerede nu ønske at vide Besked om, hvorledes ren Gjær til Industribrug kan avles, henvises derfor indtil videre til de Bemærkninger derom, som findes i mine Afhandlinger, navnlig i Zeitschr. für das gesammte Brauwesen, München 1884, p. 273, og til de Oplysninger, som senere, tildels efter mine mundtlige Meddelelser, ere fremkomne i forskjellige zymotekniske Tidkskrifter, navnlig af Aubry, Bělohoubek, Jørgensen og Will.

Det var i 1883, at jeg efter en større Maalestok begyndte mine praktiske Forsøg med ren Gjær, og at jeg af Ejeren af Gl. Carlsberg's berømte Bryggerier, vort Laboratoriums Stifter, Hr. Kapt. Jacobsen, fik Tilladelse til at overføre den i Driften. Da de første Vanskeligheder vare overvundne, og Hr. Jacobsen havde overbevist

sig om, at der her var Tale om et virkeligt Fremskridt, støttede han det paa en kraftig Maade ved sin store, almindelig anerkjendte Autoritet. Uagtet den Mistillid, hvormed de fleste, endog intelligente Bryggere modtoge den rene Gjær, blev der dog i forholdsvis kort Tid gjort Forsøg dermed i de fleste ølbryggende Lande, og for Øjeblikket er den ikke blot indført som et fast Led i Driften i alle de ansete danske Bryggerier, men tillige i et meget stort Antal af Udlandets. Æren for, at Sagen, trods den kraftige Modstand, der blev rejst derimod fra Forsøgsstationen i den kongl. Landbohøjskole i Berlin, saa hurtigt fandt Udbredelse i de for Fabrikationen af undergjæret Øl mest berømte Lande, Tydskland og Østerrig, skyldes Aubry's Laboratorium i München.

VI.

OM HINDEDANNELSEN HOS SLÆGTEN SACCHAROMYCES.

(FØRSTE AFHANDLING. HERTIL TAVLE I—VIII.)

ALMINDELIGE IAGTTAGELSER.

Det er en bekjendt Sag, at Øl, Vin og andre lignende Vædsker i Almindelighed hurtigt bedækkss med en Hinde, naar de i aabne Glas udsættes for Luftens direkte Paavirkning. Disse Hinder kunne være dannede af forskjellige Mikroorganismer: Bakterier, Saccharomyceter, saccharomyceslignende Gjærceller og Skimmelarter. Snart har en, snart en anden Art Overhaand, og derefter modtager da ogsaa Hinden strax et mere eller mindre ejendommeligt Præg.

De Hindedannelser, der navnlig have tildraget sig Opmærksomhed, ere dem, der skyldes de saccharomyceslignende Celler, som man i Systemet har tillagt Navnet Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ). Man er efterhaanden bleven vant til at tale om dem som om bekjendte Størrelser paa samme Maade, som det er sket med Sacch. cerevisiæ og med saa mange andre af Systemets Mikroorganismer, skjøndt vi i Virkeligheden ikke kunne knytte nogen bestemt Forestilling til Navnet. I den videnskabelige Strid, som for 8 Aar siden fandt Sted imellem Grawitz og Reess angaaende Spørgsmaalet om, hvorvidt den Svamp, der giver Trøske, er identisk med Sacch. Mycoderma eller ej, traadte det allerede temmelig tydeligt frem, at der under dette systematiske Navn i Virkeligheden skjules flere Species, og at det ikke betyder det samme hos de forskjellige Forfattere[1]).

[1]) I den af Plaut for kort Tid siden udgivne Afhandling om Trøskesvampen udtales den Anskuelse, at den vistnok er den samme Art som den, jeg har behandlet under Navnet Monilia candida; se p. 170.

I de Afhandlinger om Bakterier, Skimmel- og Gjærsvampe, som jeg siden 1878 har offentliggjort i dette Tidsskrift og andensteds, er der efterhaanden behandlet et stort Antal hindedannende Former og navnlig givet Exempler paa en Række mere og mindre fra hverandre afvigende Species med saccharomyceslignende Celler, der alle danne lignende Hinder som Sacch. Mycoderma, og hvoraf idetmindste flere godt kunne bestemmes med dette Artsnavn. Ingen af disse Species udvikler imidlertid de for Slægten Saccharomyces saa karakteristiske Endosporer og kunne altsaa ikke henregnes til denne. Ved fornylig atter at gjennemgaa mine tidligere Undersøgelser i den Retning, fik jeg paany dette bekræftet. Særligt havde jeg min Opmærksomhed henvendt paa de hindedannende Former, der med saa stor Lethed og bestandig optræde paa Øl, og som fremfor alle andre synes at være underforstaaede, naar Species-Navnet, Sacch. Mycoderma, nævnes; men, som sagt, ved ingen af de Dyrkningsmaader, ved hvilke Endosporer hos andre Gjærceller optraadte, viste saadanne sig her. De Forskere, der som J. de Seynes, Reess, Cienkowski og andre angive at have erholdt den omtalte Sporeudvikling hos Sacch. Mycoderma ved de sædvanlige, ogsaa af mig prøvede Dyrkningsmaader, maa følgelig enten have havt en Art for sig, som jeg uagtet fleraarig og omfattende Søgen ikke har truffet, eller, hvad der ogsaa kan tænkes, arbejdet med en Indblanding af virkelige Saccharomyceter. Naar man læser Cienkowski's Afhandling om Mycoderma vini, ledes Tanken netop hen paa den sidst omtalte Mulighed; thi han udtaler det ligefrem som højst sansynligt, at Sacch. apiculatus, Sacch. Pastorianus o. s. v. kun ere Udviklingsformer af den ovennævnte Art. Engel, som ligeledes mener at have iagttaget Endosporer hos denne Art, giver nogle Afbildninger deraf, men disse vise nærmest hen til, at han er bleven skuffet af de stærkt lysbrydende, fedtagtige Legemer, der ere saa hyppige netop hos de omtalte hindedannende Gjærceller. Mine Sacch. Mycoderma-Celler i Hinder paa Øl stemme ellers nøje overens med Reess's Beskrivelse. De have stærkt udviklede Vakuoler, ere fattige paa Plasma og gjøre paa den øvede Mikroskopiker Indtryk af, at Sporedannelse hos dem er umulig[1]).

---

[1]) Det kunde maaske være værd at tage Sagen fra en anden Side, nemlig ved at dyrke vor Art som Bundgjær igjennem talrige Generationer, og da forsøge, om den ikke herved skulde være bleven istand til at danne Endosporer. Sikkert er det, at den, naar den tvinges til at vegetere som Bundgjær, bliver mere plasmafyldt og overhovedet faar større Lighed med de Gjærsvampe, om hvilke vi nu med Sikkerhed vide, at de i deres Indre kunne udvikle Sporer.

Disse og maaske alle hidtil i Literaturen omhandlede hindedannende Gjærceller kunne vi følgelig ikke henregne til Slægten Saccharomyces. De gamle Navne Mycoderma cerevisiæ og Mycoderma vini ville derfor egentlig være heldigere end det ofte anførte, især da Eddikesyrebakterierne, der ogsaa tidligere paa Grund af deres Hindedannelse bare Navnet Mycoderma, nu have faaet det ombyttet med andre[1]).

De fleste af dem og især de Former, hvorpaa der vel navnlig er tænkt ved Navnet Sacch. Mycoderma, udmærke sig derved, at de let og hurtigt, ligesom uden Forberedelse, kunne danne Hinder paa flere organiske Vædsker, navnlig naar disse ere sure og spirituøse. Der synes ikke at gaa nogen Gjæring forud derfor, dog mangle Cellerne ikke Gjæringsevne. Det angives saaledes i Literaturen, at de, naar de ere neddykkede i en sukkerholdig Næringsvædske, kunne give en svag Alkoholgjæring, og at de paa Overfladen af vinøse Vædsker fremkalde en Oxydationsgjæring, hvorved i nogle Tilfælde Alkohol omdannes til Kulsyre og Vand, i andre til Eddikesyre; de skulle ogsaa kunne danne Fedtsyrer, derefter oxydere disse og frembringe Ætherarter (Schulz). Hinderne have idetmindste paa Øl og Urt et tørt, graaladent Udseende; i Begyndelsen se de nærmest ud som et fint Støv, senere blive de tykkere, oftest foldede og erholde en lysere Farve. Imellem Cellerne findes rigelig Luftindblanding, og ved at udsaa dem paa ny Næringsvædske viser det sig, at de her atter holde sig paa Overfladen uden at synke til Bunds.

Hinder, der have megen Lighed med de foregaaende, dannes ogsaa af andre saccharomyceslignende Arter, f. Ex. af den i min Afhandling om Pasteur's Torula p. 89 og 90 beskrevne Form. Foldninger optræde dog ikke i denne Arts Hinder. Mere forskjellige derfra ere de af Chalara Mycoderma og Monilia candida dannede Hinder; hos hin have de nemlig et klæbrigt, sejgt, lidt glindsende Udseende, hos denne frembyde de i andre Retninger Differenser; disse fortjene en nærmere Omtale.

Ved Navnet Monilia candida betegner jeg en Skimmelsvamp, der i visse Udviklingsstadier optræder med saccharomyceslignende

---

[1]) De ovenfor berørte hindedannende Gjærceller fortjene aabenbart et nøjere Studium saavel i theoretisk som ogsaa i praktisk Retning. I den interessante Afhandling, »Ueber den Einfluss der Hefe auf die Qualität des Bieres« (Böhm. Bierbrauer, Prag 1885) af Prof. Bělohoubek fremhæves blandt andet p. 448, hvilke betydelige Ølmasser, der aarligt fordærves af Mycoderma cerevisiæ.

Celler, hvilke ere særligt mærkværdige derved, at de uden foregaaende Inversion fremkalde Alkoholgjæring i en Saccharose-Opløsning, altsaa forgjære denne Sukkerart direkte. Nogle Meddelelser derom har jeg offentliggjort i Fasbender's zymotekniske Tidsskrift 1883 og i Berichte der deutschen botan. Gesellsch. 1884. Her skal kun tales om deres Hindedannelse. Udsaas unge, kraftige Celler af denne Art i en gjæringsdygtig Næringsvædske, f. Ex. Ølurt, ved en ikke for lav Temperatur, saa fremkalde de deri hurtigt en livlig Gjæring med Overgjæringsfænomener, og medens Skumblærer stige op, dannes der allerede Hinder paa Overfladen af disse. Efterat Skumudviklingen er standset, breder Hinden sig efterhaanden ud over hele Overfladen, de store hindeklædte Luftblærer briste lidt efter lidt; herved fremkommer der tidt Foldninger, dog ikke af det Udseende som i de typiske Mycoderma cerevisiæ-Hinder. I Modsætning til, hvad der var Tilfældet hos sidstnævnte, gaar altsaa her en tydelig Gjæring forud for Hindedannelsen. Medens Mycoderma cerevisiæ-Hinden under lignende Ernæringsforhold straks dannes af de paa Overfladen udsaaede Celler, maa vi med Hensyn til Monilia candida nærmest tænke os Forholdet saaledes, at dens Celler alle synke til Bunds i vore Kolber for her først som Bundgjær at formere sig, fremkalde Gjæring og for da endelig med Kulsyreblærerne atter at stige op til Overfladen, hvor Hinden derpaa udvikles med stor Hurtighed. I lignende Forsøg, men hvor Udsæden var gamle Celler, dannedes der paa Vædskens Overflade tørre, graa Hindepletter, førend der endnu havde vist sig mekroskopiske Tegn til Gjæring, og benyttes i Stedet for Ølurt en spirituøs, udgjæret Vædske som Lagerøl, bliver Forholdet ligeledes et andet. En Kultur i en Pasteursk Kolbe (Fig. 3, p. 163) med steriliseret Lagerøl gav nemlig en yderst ringe Formering og ingen Gjæring; paa Vædskens Overflade dannedes der kun en meget tynd, støvagtig Hinde. Ligesom Oidium lactis og flere andre Skimmelsvampe, der leve paa Vædskers Overflade, kan ogsaa denne under passende Ernæringsforhold udvikle et hvidmelet og laaddent Lag, aldeles forskjelligt fra alle de foran omtalte Hinder.

Hinder af en nogen anden Art end de hidtil omtalte optræde hos flere af de talrige Gjærsvampe, der af Pasteur kaldes Torula, endvidere hos Sacch. apiculatus og hos alle ægte Saccharomyceter. Hindedannelsen er overhovedet et meget almindeligt Fænomen i Mikroorganismernes Verden og findes i samme Grad hos Bakterier som hos de egentlige Svampe og hos Former, henhørende til forskjellige Afdelinger i

Systemet. Af de netop nævnte Gjærsvampes og ægte Saccharomyceter's Hindedannelser gives nedenfor en Beskrivelse; den er vel affattet efter Iagttagelser over Saccharomyceter, men passer, saa vidt mine Undersøgelser gaa, i alt Væsentligt ogsaa paa de andre Former.

Lade vi Kulturer af Saccharomyceter i steriliseret Urt henstaa uforstyrrede en kortere eller længere Tid ved almindelig Stuevarme, viser der sig efterhaanden smaa Gjærpletter saavel i Vædskens Rand op mod Glassets Væg som paa selve dens Overflade; ofte træde de sammen til Linier, Grupper og netformede Forgreninger; efterhaanden som de blive større, kunne de voxe til anselige Øer, hvis opadvendte Del er temmelig flad og den nedadvendte halvkugle- eller kegleformet. Delvis sammensmeltede og altsaa kun løst forbundne Øer ere hyppige. Dyppes en Glasstang ned i en saadan Masse, da aflejres paa den de enkelte Øer hver for sig, og man kan saaledes fiske dem op til nærmere Undersøgelse. Ved at voxe kunne et større Antal Øer smelte sammen og tilsidst dække hele Overfladen med en sammenhængende Hinde, der ovenover Vædsken paa selve Glassets Væg ofte fortsættes af et helt Gjærbælte, en Gjærringdannelse. De smaa Pletter, som vi i Begyndelsen iagttage, stamme rimeligvis i Reglen hver fra een eller i det Højeste fra nogle faa Celler, som ved Kulsyreudviklingen ere blevne løftede op fra Bundgjæren. Den egentlige Hindedannelse optræder dog først, efterat Hovedgjæringen er standset, og det derved frembragte Skum forsvundet. Svagt udviklede Pletter kan man imidlertid iagttage paa et tidligere Stadium, medens der endnu finder en tydelig Gjæring Sted, og ret talrige Kulsyreblærer stige op. Der er Kolber, i hvilke Hindedannelsen begynder ringformig langs Vædskens Rand, andre, i hvilke man tydeligt kan se, at Udviklingen netop tager fat i Overfladens Midte og herfra skyder ud til alle Sider.

Under de angivne Forhold finder der kun en svag Udvikling Sted hos Sacch. apiculatus og hos flere af de saakaldte Torula-Former, en kraftig Udvikling derimod hos alle ægte Saccharomyceter. Have vore Kulturer af disse staaet i Ro i flere Uger, uden at blive rystede, se vi som Regel, at Vædskens Overflade er mere eller mindre fuldstændig dækket med en tyk Hinde og omkrandset af et bredt Gjærbælte. Tidt findes i dette en tyk Gjærmasse, i Almindelighed med et lyst gulgraat, slimet Udseende; dette gjælder ligeledes om Hinden. Undtagelsesvis kan den dog ogsaa se mere tør ud og herved faa nogen ydre Lighed med de foran omtalte Hinder af Mycoderma cerevisiæ. Den er i Almindelighed glat, sjældnere

ujævn, ligesom besat med smaa Tuer; i sidste Tilfælde var den ofte tillige bruskagtig. Idet Hinde og Gjærring blive tykkere, vise de sig samtidig med en lysere Farve. Betragte vi gamle og tykke Saccharomyces-Hinder, se vi, navnlig hvis vedkommende Kolbe rystes, at der løsrives større og mindre Trevler deraf, som derpaa synke til Bunds, hvor et helt Lag saaledes efterhaanden kan ophobes. Imidlertid kan den tilbageblevne mere eller mindre iturevne Hinde atter reparere sig selv og efterhaanden paany tillukke Hullerne; herved sker det da ikke sjælden, at den bliver plettet eller marmoreret med tykkere, lysere Partier, de ældste Dele, og tyndere, mørkere, de sidst dannede. De tykke, slimede Lappers og Klumpers Ydre minde os meget om Zoogløadannelsen hos Bakterierne.

Iblandt de talrige Saccharomyces-Arter, hvis Hinder jeg har studeret, høre ogsaa de sex, hvorom jeg i tidligere Afhandlinger har meddelt en Række andre Undersøgelser. Det er fornemlig disse Arter, jeg har havt for Øje i den foranstaaende Beskrivelse.

Foretage vi mikroskopiske Undersøgelser af disses Hinder, erfare vi snart, at Vegetationerne deri kunne være temmelig forskjellige, endog for een og samme Art; Fig. 3, Tavle III—VIII, vise os dette. I disse Afbildninger er fremstillet sex Grupper af Celler, hver tilhørende sin Art og alle stammende fra Hinder i flere Maaneder gamle Kulturer i Pasteurske tohalsede Kolber med steriliseret Humleurt (c. 14 % Ball.) ved almindelig Stuevarme. Udsædens Celler ere aftegnede paa Tavlerne I—II; disses sex Figurgrupper vise os Vegetationer af vore sex Arter, saaledes som de ved almindelig Stuevarme optræde i ung Bundgjær i de ovenfor omtalte Urt-Kulturer, naar Næringsvædsken med korte Mellemrum flere Gange er bleven fornyet. Benyttes denne Gjær til Infektion af lignende Kolber med Urt, men som derpaa henstilles et Døgn ved c. 26° C., da erholdes Bundgjær, hvis Celler have et lignende Udseende og fremvise samme Billede. Figurerne paa Tavle I og II vise os, kort sagt, kraftige, unge Vegetationer i almindelig Bundgjær, saaledes som de bleve benyttede til at inficere de Kolber, hvori senere Hinderne udviklede sig. En Beskrivelse af de sex paagjældende Arter findes i nærværende Tidsskrift, 2 Bind, 2 Hefte, p. 67—71. Vi gaa derefter over til nærmere at betragte de omtalte Hinder.

Fig. 3, Tavle III, forestiller den Art, som er betegnet med det foreløbige Navn Sacch. cerevisiæ I. Som Figuren viser,

ligge nogle Celler enkeltvis, medens andre ere forbundne i mere eller mindre grenede Kolonier; disses Led kunne være ovale, kort pølsedannede eller meget langstrakte; i sidste Tilfælde kunne Kolonierne faa en flygtig Lighed med et Mycelium. Nogle af Cellerne ligne Udsædens (Fig. 1, Tavle I), men i Almindelighed have de antaget en mere langstrakt og ofte tillige en uregelmæssig Form. Knopperne komme ogsaa i flere Tilfælde frem paa en anden Maade end hos almindelig Bundgjær. Det mest paafaldende er dog, at vi her have en Art, hvis sædvanlige Bundgjærform efter det hidtil gængse System maa kaldes for en typisk Sacch. cerevisiæ, men hvis Hindeform gaar aldeles bort derfra og antager Skikkelse som en stærkt udpræget Sacch. Pastorianus. Saavel om denne Art som om de følgende maa det fremhæves, at en omhyggelig Betragtning af de citerede Afbildninger bedre end al Beskrivelse giver en Forestilling om Forholdene.

I Fig. 3, Tavle IV, er fremstillet en tilsvarende Vegetation af Sacch. Pastorianus I. Ogsaa heri finde vi Celler af samme Form som Udsædens (Fig. 2, Tavle I); de ere dog gjennemgaaende noget mindre end dennes; imellem dem findes mere langstrakte og barokke, undertiden næsten traadformede; Kolonier ere ikke saa fremtrædende som hos foregaaende Art.

Fig. 3, Tavle V, forestiller Sacch. Pastorianus II. Bemærkningerne for den ovenstaaende Art gjælde ogsaa i det Hele her. (Sammenlign den anførte Figur med Afbildningen af Udsædens Celler, Fig. 3, Tavle I).

Den tredie Art af denne Gruppe, Sacch. Pastorianus III, er afbildet i Fig. 3, Tavle VI. Traadformede og langstrakt pølsedannede Celler, tidt i grenede, sammenfiltrede Kolonier, ere her meget fremtrædende; flere af Cellerne have større Lighed med Bakterieformer end med Saccharomyceter. Der er overhovedet foregaaet en meget iøjnefaldende Omdannelse. (Sammenlign hermed Udsæden, Fig. 1, Tavle II). Ved Siden heraf findes dog ogsaa som sædvanlig Celler som Udsædens.

I Fig. 3, Tavle VII, ses Exempler paa en lignende Vegetation af Sacch. ellipsoideus I. Udviklingen af Kolonier med korte og langstrakt pølsedannede Led ere her det mest Ejendommelige; Grenene ere ofte krandsstillede eller modsatte. Barokke og meget langstrakte, tynde Celler iagttages ogsaa, desuden Celler af samme Form som Udsædens (Fig. 2, Tavle II). Meget iøjnefaldende er den Omdannelse, der har fundet Sted: den ved sine ovale Celler i Bundgjærformen typiske Sacch. ellipsoideus er i sin Hindeform bleven til en af Systemets Sacch. Pastorianus.

En hovedsagelig i samme Retning gaaende Formforandring viser den sidste af mine sex Arter, Sacch. ellipsoideus II. Udsædens Celler ere fremstillede i Fig. 3, Tavle II, Hindens i Fig. 3, Tavle VIII.

I alle vore Fig. 3 paa Tavlerne III—VIII finde vi Exempler paa uregelmæssige Former ligesom ogsaa paa det Forhold. at en Modercelle har udskudt en Krands eller Busk af mere eller mindre tæt ved hverandre siddende Knopper. Denne Knopskydningsform er ikke sjælden hos nogen af de sex Arter, og det er kun en Tilfældighed, at der er givet saa faa Afbildninger deraf. Den minder meget om den Form, Reess opfører som et selvstændigt Species under Navn af Sacch. conglomeratus, og er maaske identisk dermed; jeg har i ethvert Fald uagtet flittig Søgen i de Aar, jeg har underkastet Saccharomyceterne et særligt Studium, ikke truffet paa andre, som kunde henføres dertil. En kraftig Udvikling af langstrakte Celler, enkeltvis og i Kolonier, traadte kun frem i de ældre Kulturer, og Forholdet imellem denne Udvikling og Udviklingen af ovale og kort pølsedannede Celler var overhovedet vexlende; snart fandtes Overvægten paa den ene, snart paa den anden Side. Figurerne bleve tegnede efter talrige Kulturer og derefter sammenlignede med endnu flere; de indeholde de vigtigste af de Former, der optraadte. I Gjærringdannelserne iagttoges ingen andre end de, der ogsaa fandtes i vedkommende Arts Hinder, dog kunde der i samme Kolbe være tydelig Forskjel paa Hindens og Gjærringens Vegetationer. De yngre Hinder bestode regelmæssig af Celler med et kraftigt Udseende; de gamle Hinders havde derimod tydeligt fremtrædende Væg og indeholdt stærkt lysbrydende Korn og uregelmæssige Legemer. Saadanne Celler havde tillige undertiden et smudsigt gulladent Udseende.

Sammenligne vi de sex undersøgte Hindeformer, saa finde vi, at de alle have udviklet mere langstrakte Celler og som Regel tillige mere sammensatte Kolonier, end der fandtes i den tilsvarende Udsæd. Stærkest træder dette frem hos Sacch. cerevisiæ I, Sacch. ellipsoideus I, og Sacch. ellipsoideus II, hvis Hindeformer som anført anvise disse tre Arter en helt anden Arts Plads end deres Bundgjærformer, et nyt Bevis for det Uholdbare i de Principer, hvorefter Reess's System er opført. Mærkværdig ved sin Udvikling af meget langstrakte, ofte traadformede og bakterielignende Celler er Sacch. Pastorianus III. Sacch. Pastorianus I og Sacch. Pastorianus II frembyde størst Lighed med hinanden; paa samme Maade er der stor Overensstemmelse imellem Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II. Trods Ligheden imellem vore sex Species,

træder der dog ved nøjere Betragtning Differenser frem; de ere imidlertid af en saa vanskelig og fin Art, at der egentlig ikke kan gives andet Udtryk derfor, end det, Figurgrupperne vise, og tages de enkelte Celler for sig, svinde alle Grændserne. Disse Antydninger havde, i hvor dunkle de end vare, dog Betydning for mig. I mine Undersøgelser over Mikroorganismerne er der nemlig fra deres Begyndelse bestandig gaaet en Bestræbelse efter at finde Karakterer hos de Former, hvormed Experimenterne bleve anstillede, for saaledes at erholde faste Udgangspunkter. En af Hovedopgaverne for min Forsken blev saaledes det fundamentale og i vor Tid saa brændende Spørgsmaal om Species og disses Begrændsning, og herved erholdt mine Arbejder deres fremtrædende botaniske Præg. Det var ligeledes fornemlig fra dette Synspunkt, at de foreliggende Undersøgelser bleve begyndte. Efterat de ovenfor omtalte Iagttagelser vare afsluttede, kunde Spørgsmaalet gives en bestemtere Form og underkastes en experimentel Behandling. Det Vigtigste herom meddeles i det følgende Afsnit. Som sædvanlig har der under Hovedarbejdet aabnet sig nye Sideveje; og om disse gives ligeledes sammesteds nogle Oplysninger.

EXPERIMENTER.

Saa vidt vor Viden for Øjeblikket gaar, maa vi antage, at det er en fælleds Betingelse for alle de i det foregaaende Afsnit omhandlede Hindedannelser, at vedkommende Mikroorganisme maa have direkte Adgang til atmosfærisk Luft, og at der, for at en kraftig Udvikling i den nævnte Retning skal indtræde, maa være en rigelig Tilførsel deraf. Forsøg med Saccharomyceter bekræfte dette. Tages f. Ex. en Række Pasteurske Kolber af nøjagtigt samme Beskaffenhed, hver indeholdende en ligestor Portion af den samme steriliserede Urt, og inficeres disse med en Gjærart, der er villig til at udvikle Hinde, f. Ex. Sacch. ellipsoideus II, da vil man, hvis Halvdelen af disse aldeles ensartede Kolber anbringes saaledes i Vand med deres bøjede Rør, at en Afspærring finder Sted, og at den under Gjæringen udviklede Kulsyre som Bobler maa bane sig Vej op igjennem Vandet, finde, at der efter nogen Tids Forløb vel optræder en Hindedannelse, men at den udvikler sig langsommere og langtfra saa kraftigt som i de Kolber, der ikke bleve afspærrede. Under forresten lige Forhold erholder man

ligeledes hurtigere Hindeudvikling i Chamberland-Kolberne (Fig. 2 p. 157) end i de Pasteurske, og endnu hurtigere og kraftigere, naar der anvendes de p. 164 afbildede Kogeflasker, overbundne med to Lag steriliseret almindeligt Filtrerpapir. Da det tilmed er let at tage Prøver op fra ethvertsomhelst Punkt af de i disse Flasker dannede Hinder uden i højere Grad at forstyrre dem, bleve de fortrinsvis benyttede af mig til mine Forsøg, og naar intet Andet siges, er der bestandig tænkt paa dem. Hver rummede 142 og indeholdt 70 Kub.-Cent. steriliseret klar, humlet Urt (c. 14 % Ball.), som den almindelig forefindes i Undergjæringsbryggerier. Det er den Næringsvædske, jeg hyppigst har benyttet i mine gjærings-fysiologiske Experimenter, og som saa ofte er omtalt i mine Afhandlinger. Udsæden blev forberedet paa samme Maade som til mine Undersøgelser over Askosporedannelsen og bestod af de samme sex Arter, hvilke der ere omtalte. Efterat vedkommende Celler i nogen Tid vare blevne dyrkede i den omtalte Ølurt ved almindelig Stuevarme, bleve unge. kraftige Celler herfra overførte i ny Urt af samme Beskaffenhed som den tidligere og saaledes dyrkede i henved 1 Døgn ved 26—27° C. Den gjærende Vædske blev derpaa fjernet og til Gjærbundfaldet sat en lignende Portion af den ovennævnte Urt, hvorpaa en Omrystning foretoges for at erholde en nogenlunde jævn Fordeling af Cellerne. Af denne Blanding udsaaedes en Draabe i hver af de beskrevne Flasker. At alle disse Arbejder bleve udførte saaledes, at en fremmed Infektion blev undgaaet, er en Selvfølge.

Forinden vi gaa videre, vil det være rigtigt at kaste et Blik paa de Celler, der dannede Udgangspunkterne for Experimenterne; de ere afbildede paa Tavle I og II i den Orden, hvori Arterne saavel i denne som i mine tidligere Afhandlinger behandles.

Fig. 1, Tavle I, forestiller Sacch. cerevisiæ I; den bestaar fortrinsvis af store, runde og ovale Celler, egentlig langstrakte optraadte ikke.

Cellerne af Sacch. Pastorianus I (Fig. 2 Tavle I) have i det Hele et andet Udseende; de ere nemlig hyppigst langstrakt pølsedannede, herimellem findes dog ogsaa, om end kun som underordnet Indblanding, større og mindre ovale og runde Celler, hvoraf mange ligne foranstaaende Art. Hvad der er sagt om Sacch. Pastorianus I, gjælder ogsaa om de to andre Arter af samme Gruppe, Sacch. Pastorianus II (Fig. 3, Tavle I) og Sacch. Pastorianus III (Fig. 1, Tavle II). Under de angivne Dyrkningsforsøg stemme de overhovedet alle tre væsentlig overens. Differenserne ere, som et Blik paa Afbildningerne viser, i hvert Fald meget ringe.

Sacch. ellipsoideus I (Fig. 2, Tavle II) slutter sig, hvad Formen angaar, nær til Sacch. ellipsoideus II (Fig. 3, Tavle II); begge disse Arter udmærke sig ved et overvejende Antal ovale og runde Celler; pølsedannede Celler forekomme dog ogsaa hos begge, men i Reglen næppe saa talrige, som de to Afbildninger vise.

Nogle af de foregaaende Arter adskille sig endvidere fra hverandre ved deres forskjellige Lysbrydning. Det er imidlertid en Karakter af en saadan Art, som kun den, der ved daglig Øvelse under saadanne Studier har udviklet sit Øje, vil kunne bemærke. De Forsøg, der ere blevne anstillede her paa Laboratoriet for at finde et videnskabeligt Udtryk derfor, have endnu ikke ført til noget Resultat.

Angaaende Udmaalingerne viste det sig, at der herved kun var temmelig ringe Oplysning at erholde: Den største Diameter af Sacch. cerevisiæ I var 11—5, hyppigst 8—6 Mikromillim. Hos de tre Arter af Gruppen Pastorianus var største Dimension 17—$2^1/_2$ hyppig 8—7 Mikromillim., hos Sacch. ellipsoideus I 13—$2^1/_2$, hyppig 7—6 Mikromillim., og hos Sacch. ellipsoideus II 11—3, hyppig 8—7 Mikromillim.

Sammenligne vi til Slutning de paa Tavle I og II fremstillede 6 Grupper af Celler, saa finde vi altsaa, at vi med temmelig Lethed kunne skjelne imellem 3 Afdelinger, hvoraf den ene omfatter Sacch. cerevisiæ I, den anden de 3 Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus, og den tredie de 2 Arter af Gruppen Sacch. ellipsoideus. Dette gjælder dog kun, naar Talen er om Renkulturer og kun under de foran nævnte Livsforhold.

Da de saaledes under de samme ydre Faktorer gjennem talløse Generationer i Aarevis dyrkede Arter bestandig have vist de samme Differenser, tyder dette paa en Forskjellighed hos Cellerne selv, paa Noget disse iboende. Vexle Livsbetingelserne, blive ogsaa, som vi i det Følgende skulle se, Forholdene anderledes. Jeg har allerede i tidligere Arbejder paavist ydre Faktorers Indflydelse paa Udviklingen af Cellernes Form[1]); vi skulle nu paa et nyt Omraade stifte nærmere Bekjendtskab med det rige Spil,

---

[1]) Se navnlig min Afhandling: Om Askosporedannelsen, p. 79. Det vises her, hvorledes Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærform), efter en vis Behandling og derpaa følgende Dyrkning ved højere og lavere Varmegrader, ved 27° C. udvikler Celler med det normale, typiske Udseende, men ved $7^1/_2$° C. derimod sammenfiltrede Kolonier med mycelieagtige Forgreninger.

den store Foranderlighed, som her kan optræde, en Foranderlighed saa stor, at Alt synes at være flydende. For den opmærksomme Iagttager vise Grændserne sig dog, det Faste i det Omskiftende. Vore Hovedbestræbelser skulle gaa ud paa at udfinde Lovene i den Strøm af Metamorfoser, som Experimenterne sætte i Gang.

Efterat de beskrevne Rendyrkninger af de sex Arter vare blevne udsaaede hver i sin Flaske med Urt, og Flaskerne atter tilbørlig overbundne med Filtrerpapir, bleve de strax stillede ind i Thermostaten ved en Række forskjellige Temperaturer. Der var sørget for, at Flaskerne kort før Infektionen havde den ønskede Varmegrad. Som et fælles Udgangspunkt ved den mikroskopiske Undersøgelse bleve bestandig de første Udviklingstrin af Hindedannelserne benyttede, saasnart de vare saa tydelige, at de med Sikkerhed kunde iagttages med det blotte Øje. De herfra stammende Vegetationer ere afbildede i Figurerne 1 og 2 paa Tavlerne III—VIII. Ogsaa den ved lang Henstand fremkomne Vegetation blev studeret, og herom gives ligeledes paa sit Sted Oplysning. Med hver Art blev der anstillet talrige Forsøg. Nedenfor meddeles Resultaterne.

Sacch. cerevisiæ I.

(Tavle III, Fig. 1—3.)

Ved 38° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 33—34° C. fandtes efter 9—18 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 2.
- 26—28° C. .... efter 7—11 Døgn - .... Fig. 2.
- 20—22° C. .... - 7—10 Døgn - .... Fig. 2.
- 13—15° C. .... - 15—30 Døgn - .... Fig. 1.
- 6—7° C. .... - 2—3 Mndr. - .... Fig. 1.
- 5° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus I.

(Tavle IV, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C. .... efter 8—15 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C. .... - 15—30 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2, dog uden de store Kolonier.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus II.

(Tavle V, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C........ efter 8—15 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C........ - 10—25 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus III.

(Tavle VI, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C........ efter 9—12 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C........ - 10—20 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2, dog uden de stærkt udviklede Kolonier.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. ellipsoideus I.

(Tavle VII, Fig. 1—3.)

Ved 38° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 33—34° C. fandtes efter 8—12 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 26—28° C........ efter 9—16 Døgn - .... Fig. 1.
- 20—22° C........ - 10—17 Døgn - .... Fig. 1, dog i Reglen med Tilløb til Fig. 2.
- 13—15° C........ - 15—30 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 2—3 Mndr. - .... Fig. 1.
- 5° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. ellipsoideus II.

(Tavle VIII, Fig. 1—3.)

Ved 40° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 36—38° C. fandtes efter 8—12 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 33—34° C......... efter 3—4 Døgn - .... Fig. 1.

Ved 16—28 ° C. fandtes efter 4—5 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som.... Fig. 1 og 2.
- 20—22 ° C......... efter 4—6 Døgn - .... Fig. 1 og 2.
- 13—15 ° C......... - 8—10 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. optraadte ingen Hindedannelse.

I den foranstaaende Fremstilling af mine Undersøgelser over de sex Arters Hindedannelse ved forskjellige Temperaturer spille Afbildningerne en meget væsentlig Rolle. De ere udførte dels af mig selv, dels af Hr. Assistent Holm og alle tegnede efter Naturen. Jeg har lagt Vægt paa, at de skulle give saavel en fyldig som en nøjagtig Forestilling om de Former, hvormed vedkommende Art under de angivne Forhold optræder; at udtømme Stoffet kan der naturligvis slet ikke være Tale om; thi det er en Uendelighed af smaa Formforandringer, hver Arts Celler endog i den samme Kultur kunne fremvise; Opgaven maa derfor blive at gribe de fremtrædende Træk og at gjengive disse. I det Følgende ville vi først søge at erholde et Overblik over hver Arts Hindeformer for sig og derefter foretage en Sammenligning imellem de sex Arter paa een Gang for at se, hvilke Lærdomme vi derved kunne uddrage.

Vi begynde som sædvanlig med Sacch. cerevisiæ I. Fig. 2, Tavle III, forestiller, som det erindres, Vegetationen ved de højere Varmegrader (20—34 ° C.). Sammenlignes den med Udsæden (Fig. 1, Tavle I), ses det, at Kolonier ere blevne hyppigere, og at pølsedannede og lidt barokke Celler ikke ere sjældne. Større Lighed med Udsædens Celler have Vegetationerne ved Temperaturer fra 15—6 ° C. (Fig. 1, Tavle III).

Sacch. Pastorianus I stemmer i Kulturer ved 20—28 ° C. (Fig. 1, Tavle IV) nogenlunde overens med Udsæden (Fig. 2, Tavle I); Cellerne ere dog gjennemgaaende noget mindre og spinklere end dennes; (nogle af de langstrakte Celler i Fig. 1 ere mindre heldigt gjengivne). Ved Temperaturer under 15 ° C. bleve de i Reglen større og kraftigere, og ved 13—15 ° C. optraadte almindelig stærkt udviklede, mycelieagtige Kolonier af langstrakt pølsedannede Celler (Fig. 2, Tavle IV). Som sædvanlig iagttoges i de forskjellige Kulturer af denne ligesom af de øvrige Arter nogen Svingning i Forholdet mellem de ovale og de kort pølsedannede Celler paa den ene og de omtalte Kolonier paa den anden Side.

Ogsaa hos Sacch. Pastorianus II stemme Vegetationerne ved 20—28 ° C. (Fig. 1, Tavle V) temmelig nøje overens med Ud-

VI.

OM HINDEDANNELSEN HOS SLÆGTEN SACCHAROMYCES.

(FØRSTE AFHANDLING. HERTIL TAVLE I—VIII.)

ALMINDELIGE IAGTTAGELSER.

Det er en bekjendt Sag, at Øl, Vin og andre lignende Vædsker i Almindelighed hurtigt bedækkss med en Hinde, naar de i aabne Glas udsættes for Luftens direkte Paavirkning. Disse Hinder kunne være dannede af forskjellige Mikroorganismer: Bakterier, Saccharomyceter, saccharomyceslignende Gjærceller og Skimmelarter. Snart har en, snart en anden Art Overhaand, og derefter modtager da ogsaa Hinden strax et mere eller mindre ejendommeligt Præg.

De Hindedannelser, der navnlig have tildraget sig Opmærksomhed, ere dem, der skyldes de saccharomyceslignende Celler, som man i Systemet har tillagt Navnet Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ). Man er efterhaanden bleven vant til at tale om dem som om bekjendte Størrelser paa samme Maade, som det er sket med Sacch. cerevisiæ og med saa mange andre af Systemets Mikroorganismer, skjøndt vi i Virkeligheden ikke kunne knytte nogen bestemt Forestilling til Navnet. I den videnskabelige Strid, som for 8 Aar siden fandt Sted imellem Grawitz og Reess angaaende Spørgsmaalet om, hvorvidt den Svamp, der giver Trøske, er identisk med Sacch. Mycoderma eller ej, traadte det allerede temmelig tydeligt frem, at der under dette systematiske Navn i Virkeligheden skjules flere Species, og at det ikke betyder det samme hos de forskjellige Forfattere[1]).

---

[1]) I den af Plaut for kort Tid siden udgivne Afhandling om Trøskesvampen udtales den Anskuelse, at den vistnok er den samme Art som den, jeg har behandlet under Navnet Monilia candida; se p. 170.

I de Afhandlinger om Bakterier, Skimmel- og Gjærsvampe, som jeg siden 1878 har offentliggjort i dette Tidsskrift og andensteds, er der efterhaanden behandlet et stort Antal hindedannende Former og navnlig givet Exempler paa en Række mere og mindre fra hverandre afvigende Species med saccharomyceslignende Celler, der alle danne lignende Hinder som Sacch. Mycoderma, og hvoraf idetmindste flere godt kunne bestemmes med dette Artsnavn. Ingen af disse Species udvikler imidlertid de for Slægten Saccharomyces saa karakteristiske Endosporer og kunne altsaa ikke henregnes til denne. Ved fornylig atter at gjennemgaa mine tidligere Undersøgelser i den Retning, fik jeg paany dette bekræftet. Særligt havde jeg min Opmærksomhed henvendt paa de hindedannende Former, der med saa stor Lethed og bestandig optræde paa Øl, og som fremfor alle andre synes at være underforstaaede, naar Species-Navnet, Sacch. Mycoderma, nævnes; men, som sagt, ved ingen af de Dyrkningsmaader, ved hvilke Endosporer hos andre Gjærceller optraadte, viste saadanne sig her. De Forskere, der som J. de Seynes, Reess, Cienkowski og andre angive at have erholdt den omtalte Sporeudvikling hos Sacch. Mycoderma ved de sædvanlige, ogsaa af mig prøvede Dyrkningsmaader, maa følgelig enten have havt en Art for sig, som jeg uagtet fleraarig og omfattende Søgen ikke har truffet, eller, hvad der ogsaa kan tænkes, arbejdet med en Indblanding af virkelige Saccharomyceter. Naar man læser Cienkowski's Afhandling om Mycoderma vini, ledes Tanken netop hen paa den sidst omtalte Mulighed; thi han udtaler det ligefrem som højst sansynligt, at Sacch. apiculatus, Sacch. Pastorianus o. s. v. kun ere Udviklingsformer af den ovennævnte Art. Engel, som ligeledes mener at have iagttaget Endosporer hos denne Art, giver nogle Afbildninger deraf, men disse vise nærmest hen til, at han er bleven skuffet af de stærkt lysbrydende, fedtagtige Legemer, der ere saa hyppige netop hos de omtalte hindedannende Gjærceller. Mine Sacch. Mycoderma-Celler i Hinder paa Øl stemme ellers nøje overens med Reess's Beskrivelse. De have stærkt udviklede Vakuoler, ere fattige paa Plasma og gjøre paa den øvede Mikroskopiker Indtryk af, at Sporedannelse hos dem er umulig[1]).

[1]) Det kunde maaske være værd at tage Sagen fra en anden Side, nemlig ved at dyrke vor Art som Bundgjær igjennem talrige Generationer, og da forsøge, om den ikke herved skulde være bleven istand til at danne Endosporer. Sikkert er det, at den, naar den tvinges til at vegetere som Bundgjær, bliver mere plasmafyldt og overhovedet faar større Lighed med de Gjærsvampe, om hvilke vi nu med Sikkerhed vide, at de i deres Indre kunne udvikle Sporer.



Disse og maaske alle hidtil i Literaturen omhandlede hindedannende Gjærceller kunne vi følgelig ikke henregne til Slægten Saccharomyces. De gamle Navne Mycoderma cerevisiæ og Mycoderma vini ville derfor egentlig være heldigere end det ofte anførte, især da Eddikesyrebakterierne, der ogsaa tidligere paa Grund af deres Hindedannelse bare Navnet Mycoderma, nu have faaet det ombyttet med andre[1]).

De fleste af dem og især de Former, hvorpaa der vel navnlig er tænkt ved Navnet Sacch. Mycoderma, udmærke sig derved, at de let og hurtigt, ligesom uden Forberedelse, kunne danne Hinder paa flere organiske Vædsker, navnlig naar disse ere sure og spirituøse. Der synes ikke at gaa nogen Gjæring forud derfor, dog mangle Cellerne ikke Gjæringsevne. Det angives saaledes i Literaturen, at de, naar de ere neddykkede i en sukkerholdig Næringsvædske, kunne give en svag Alkoholgjæring, og at de paa Overfladen af vinøse Vædsker fremkalde en Oxydationsgjæring, hvorved i nogle Tilfælde Alkohol omdannes til Kulsyre og Vand, i andre til Eddikesyre; de skulle ogsaa kunne danne Fedtsyrer, derefter oxydere disse og frembringe Ætherarter (Schulz). Hinderne have idetmindste paa Øl og Urt et tørt, graaladent Udseende; i Begyndelsen se de nærmest ud som et fint Støv, senere blive de tykkere, oftest foldede og erholde en lysere Farve. Imellem Cellerne findes rigelig Luftindblanding, og ved at udsaa dem paa ny Næringsvædske viser det sig, at de her atter holde sig paa Overfladen uden at synke til Bunds.

Hinder, der have megen Lighed med de foregaaende, dannes ogsaa af andre saccharomyceslignende Arter, f. Ex. af den i min Afhandling om Pasteur's Torula p. 89 og 90 beskrevne Form. Foldninger optræde dog ikke i denne Arts Hinder. Mere forskjellige derfra ere de af Chalara Mycoderma og Monilia candida dannede Hinder; hos hin have de nemlig et klæbrigt, sejgt, lidt glindsende Udseende, hos denne frembyde de i andre Retninger Differenser; disse fortjene en nærmere Omtale.

Ved Navnet Monilia candida betegner jeg en Skimmelsvamp, der i visse Udviklingsstadier optræder med saccharomyceslignende

---

[1]) De ovenfor berørte hindedannende Gjærceller fortjene aabenbart et nøjere Studium saavel i theoretisk som ogsaa i praktisk Retning. I den interessante Afhandling, »Ueber den Einfluss der Hefe auf die Qualität des Bieres« (Böhm. Bierbrauer, Prag 1885) af Prof. Bělohoubek fremhæves blandt andet p. 448, hvilke betydelige Ølmasser, der aarligt fordærves af Mycoderma cerevisiæ.

Celler, hvilke ere særligt mærkværdige derved, at de uden foregaaende Inversion fremkalde Alkoholgjæring i en Saccharose-Opløsning, altsaa forgjære denne Sukkerart direkte. Nogle Meddelelser derom har jeg offentliggjort i Fasbender's zymotekniske Tidsskrift 1883 og i Berichte der deutschen botan. Gesellsch. 1884. Her skal kun tales om deres Hindedannelse. Udsaas unge, kraftige Celler af denne Art i en gjæringsdygtig Næringsvædske, f. Ex. Ølurt, ved en ikke for lav Temperatur, saa fremkalde de deri hurtigt en livlig Gjæring med Overgjæringsfænomener, og medens Skumblærer stige op, dannes der allerede Hinder paa Overfladen af disse. Efterat Skumudviklingen er standset, breder Hinden sig efterhaanden ud over hele Overfladen, de store hindeklædte Luftblærer briste lidt efter lidt; herved fremkommer der tidt Foldninger, dog ikke af det Udseende som i de typiske Mycoderma cerevisiæ-Hinder. I Modsætning til, hvad der var Tilfældet hos sidstnævnte, gaar altsaa her en tydelig Gjæring forud for Hindedannelsen. Medens Mycoderma cerevisiæ-Hinden under lignende Ernæringsforhold straks dannes af de paa Overfladen udsaaede Celler, maa vi med Hensyn til Monilia candida nærmest tænke os Forholdet saaledes, at dens Celler alle synke til Bunds i vore Kolber for her først som Bundgjær at formere sig, fremkalde Gjæring og for da endelig med Kulsyreblærerne atter at stige op til Overfladen, hvor Hinden derpaa udvikles med stor Hurtighed. I lignende Forsøg, men hvor Udsæden var gamle Celler, dannedes der paa Vædskens Overflade tørre, graa Hindepletter, førend der endnu havde vist sig mekroskopiske Tegn til Gjæring, og benyttes i Stedet for Ølurt en spirituøs, udgjæret Vædske som Lagerøl, bliver Forholdet ligeledes et andet. En Kultur i en Pasteursk Kolbe (Fig. 3, p. 163) med steriliseret Lagerøl gav nemlig en yderst ringe Formering og ingen Gjæring; paa Vædskens Overflade dannedes der kun en meget tynd, støvagtig Hinde. Ligesom Oidium lactis og flere andre Skimmelsvampe, der leve paa Vædskers Overflade, kan ogsaa denne under passende Ernæringsforhold udvikle et hvidmelet og laaddent Lag, aldeles forskjelligt fra alle de foran omtalte Hinder.

Hinder af en nogen anden Art end de hidtil omtalte optræde hos flere af de talrige Gjærsvampe, der af Pasteur kaldes Torula, endvidere hos Sacch. apiculatus og hos alle ægte Saccharomyceter. Hindedannelsen er overhovedet et meget almindeligt Fænomen i Mikroorganismernes Verden og findes i samme Grad hos Bakterier som hos de egentlige Svampe og hos Former, henhørende til forskjellige Afdelinger i

Systemet. Af de netop nævnte Gjærsvampes og ægte Saccharomyceter's Hindedannelser gives nedenfor en Beskrivelse; den er vel affattet efter Iagttagelser over Saccharomyceter, men passer, saa vidt mine Undersøgelser gaa, i alt Væsentligt ogsaa paa de andre Former.

Lade vi Kulturer af Saccharomyceter i steriliseret Urt henstaa uforstyrrede en kortere eller længere Tid ved almindelig Stuevarme, viser der sig efterhaanden smaa Gjærpletter saavel i Vædskens Rand op mod Glassets Væg som paa selve dens Overflade; ofte træde de sammen til Linier, Grupper og netformede Forgreninger; efterhaanden som de blive større, kunne de voxe til anselige Øer, hvis opadvendte Del er temmelig flad og den nedadvendte halvkugle- eller kegleformet. Delvis sammensmeltede og altsaa kun løst forbundne Øer ere hyppige. Dyppes ėn Glasstang ned i en saadan Masse, da aflejres paa den de enkelte Øer hver for sig, og man kan saaledes fiske dem op til nærmere Undersøgelse. Ved at voxe kunne et større Antal Øer smelte sammen og tilsidst dække hele Overfladen med en sammenhængende Hinde, der ovenover Vædsken paa selve Glassets Væg ofte fortsættes af et helt Gjærbælte, en Gjærringdannelse. De smaa Pletter, som vi i Begyndelsen iagttage, stamme rimeligvis i Reglen hver fra een eller i det Højeste fra nogle faa Celler, som ved Kulsyreudviklingen ere blevne løftede op fra Bundgjæren. Den egentlige Hindedannelse optræder dog først, efterat Hovedgjæringen er standset, og det derved frembragte Skum forsvundet. Svagt udviklede Pletter kan man imidlertid iagttage paa et tidligere Stadium, medens der endnu finder en tydelig Gjæring Sted, og ret talrige Kulsyreblærer stige op. Der er Kolber, i hvilke Hindedannelsen begynder ringformig langs Vædskens Rand, andre, i hvilke man tydeligt kan se, at Udviklingen netop tager fat i Overfladens Midte og herfra skyder ud til alle Sider.

Under de angivne Forhold finder der kun en svag Udvikling Sted hos Sacch. apiculatus og hos flere af de saakaldte Torula-Former, en kraftig Udvikling derimod hos alle ægte Saccharomyceter. Have vore Kulturer af disse staaet i Ro i flere Uger, uden at blive rystede, se vi som Regel, at Vædskens Overflade er mere eller mindre fuldstændig dækket med en tyk Hinde og omkrandset af et bredt Gjærbælte. Tidt findes i dette en tyk Gjærmasse, i Almindelighed med et lyst gulgraat, slimet Udseende; dette gjælder ligeledes om Hinden. Undtagelsesvis kan den dog ogsaa se mere tør ud og herved faa nogen ydre Lighed med de foran omtalte Hinder af Mycoderma cerevisiæ. Den er i Almindelighed glat, sjældnere

ujævn, ligesom besat med smaa Tuer; i sidste Tilfælde var den ofte tillige bruskagtig. Idet Hinde og Gjærring blive tykkere, vise de sig samtidig med en lysere Farve. Betragte vi gamle og tykke Saccharomyces-Hinder, se vi, navnlig hvis vedkommende Kolbe rystes, at der løsrives større og mindre Trevler deraf, som derpaa synke til Bunds, hvor et helt Lag saaledes efterhaanden kan ophobes. Imidlertid kan den tilbageblevne mere eller mindre iturevne Hinde atter reparere sig selv og efterhaanden paany tillukke Hullerne; herved sker det da ikke sjælden, at den bliver plettet eller marmoreret med tykkere, lysere Partier, de ældste Dele, og tyndere, mørkere, de sidst dannede. De tykke, slimede Lappers og Klumpers Ydre minde os meget om Zoogløadannelsen hos Bakterierne.

Iblandt de talrige Saccharomyces-Arter, hvis Hinder jeg har studeret, høre ogsaa de sex, hvorom jeg i tidligere Afhandlinger har meddelt en Række andre Undersøgelser. Det er fornemlig disse Arter, jeg har havt for Øje i den foranstaaende Beskrivelse.

Foretage vi mikroskopiske Undersøgelser af disses Hinder, erfare vi snart, at Vegetationerne deri kunne være temmelig forskjellige, endog for een og samme Art; Fig. 3, Tavle III—VIII, vise os dette. I disse Afbildninger er fremstillet sex Grupper af Celler, hver tilhørende sin Art og alle stammende fra Hinder i flere Maaneder gamle Kulturer i Pasteurske tohalsede Kolber med steriliseret Humleurt (c. 14 °/o Ball.) ved almindelig Stuevarme. Udsædens Celler ere aftegnede paa Tavlerne I—II; disses sex Figurgrupper vise os Vegetationer af vore sex Arter, saaledes som de ved almindelig Stuevarme optræde i ung Bundgjær i de ovenfor omtalte Urt-Kulturer, naar Næringsvædsken med korte Mellemrum flere Gange er bleven fornyet. Benyttes denne Gjær til Infektion af lignende Kolber med Urt, men som derpaa henstilles et Døgn ved c. 26° C., da erholdes Bundgjær, hvis Celler have et lignende Udseende og fremvise samme Billede. Figurerne paa Tavle I og II vise os, kort sagt, kraftige, unge Vegetationer i almindelig Bundgjær, saaledes som de bleve benyttede til at inficere de Kolber, hvori senere Hinderne udviklede sig. En Beskrivelse af de sex paagjældende Arter findes i nærværende Tidsskrift, 2 Bind, 2 Hefte, p. 67—71. Vi gaa derefter over til nærmere at betragte de omtalte Hinder.

Fig. 3, Tavle III, forestiller den Art, som er betegnet med det foreløbige Navn Sacch. cerevisiæ I. Som Figuren viser,

ligge nogle Celler enkeltvis, medens andre ere forbundne i mere eller mindre grenede Kolonier; disses Led kunne være ovale, kort pølsedannede eller meget langstrakte; i sidste Tilfælde kunne Kolonierne faa en flygtig Lighed med et Mycelium. Nogle af Cellerne ligne Udsædens (Fig. 1, Tavle I), men i Almindelighed have de antaget en mere langstrakt og ofte tillige en uregelmæssig Form. Knopperne komme ogsaa i flere Tilfælde frem paa en anden Maade end hos almindelig Bundgjær. Det mest paafaldende er dog, at vi her have en Art, hvis sædvanlige Bundgjærform efter det hidtil gængse System maa kaldes for en typisk Sacch. cerevisiæ, men hvis Hindeform gaar aldeles bort derfra og antager Skikkelse som en stærkt udpræget Sacch. Pastorianus. Saavel om denne Art som om de følgende maa det fremhæves, at en omhyggelig Betragtning af de citerede Afbildninger bedre end al Beskrivelse giver en Forestilling om Forholdene.

I Fig. 3, Tavle IV, er fremstillet en tilsvarende Vegetation af Sacch. Pastorianus I. Ogsaa heri finde vi Celler af samme Form som Udsædens (Fig. 2, Tavle I); de ere dog gjennemgaaende noget mindre end dennes; imellem dem findes mere langstrakte og barokke, undertiden næsten traadformede; Kolonier ere ikke saa fremtrædende som hos foregaaende Art.

Fig. 3, Tavle V, forestiller Sacch. Pastorianus II. Bemærkningerne for den ovenstaaende Art gjælde ogsaa i det Hele her. (Sammenlign den anførte Figur med Afbildningen af Udsædens Celler, Fig. 3, Tavle I).

Den tredie Art af denne Gruppe, Sacch. Pastorianus III, er afbildet i Fig. 3, Tavle VI. Traadformede og langstrakt pølsedannede Celler, tidt i grenede, sammenfiltrede Kolonier, ere her meget fremtrædende; flere af Cellerne have større Lighed med Bakterieformer end med Saccharomyceter. Der er overhovedet foregaaet en meget iøjnefaldende Omdannelse. (Sammenlign hermed Udsæden, Fig. 1, Tavle II). Ved Siden heraf findes dog ogsaa som sædvanlig Celler som Udsædens.

I Fig. 3, Tavle VII, ses Exempler paa en lignende Vegetation af Sacch. ellipsoideus I. Udviklingen af Kolonier med korte og langstrakt pølsedannede Led ere her det mest Ejendommelige; Grenene ere ofte krandsstillede eller modsatte. Barokke og meget langstrakte, tynde Celler iagttages ogsaa, desuden Celler af samme Form som Udsædens (Fig. 2, Tavle II). Meget iøjnefaldende er den Omdannelse, der har fundet Sted: den ved sine ovale Celler i Bundgjærformen typiske Sacch. ellipsoideus er i sin Hindeform bleven til en af Systemets Sacch. Pastorianus.

En hovedsagelig i samme Retning gaaende Formforandring viser den sidste af mine sex Arter, Sacch. ellipsoideus II. Udsædens Celler ere fremstillede i Fig. 3, Tavle II, Hindens i Fig. 3, Tavle VIII.

I alle vore Fig. 3 paa Tavlerne III—VIII finde vi Exempler paa uregelmæssige Former ligesom ogsaa paa det Forhold. at en Modercelle har udskudt en Krands eller Busk af mere eller mindre tæt ved hverandre siddende Knopper. Denne Knopskydningsform er ikke sjælden hos nogen af de sex Arter, og det er kun en Tilfældighed, at der er givet saa faa Afbildninger deraf. Den minder meget om den Form, Reess opfører som et selvstændigt Species under Navn af Sacch. conglomeratus, og er maaske identisk dermed; jeg har i ethvert Fald uagtet flittig Søgen i de Aar, jeg har underkastet Saccharomyceterne et særligt Studium, ikke truffet paa andre, som kunde henføres dertil. En kraftig Udvikling af langstrakte Celler, enkeltvis og i Kolonier, traadte kun frem i de ældre Kulturer, og Forholdet imellem denne Udvikling og Udviklingen af ovale og kort pølsedannede Celler var overhovedet vexlende; snart fandtes Overvægten paa den ene, snart paa den anden Side. Figurerne bleve tegnede efter talrige Kulturer og derefter sammenlignede med endnu flere; de indeholde de vigtigste af de Former, der optraadte. I Gjærringdannelserne iagttoges ingen andre end de, der ogsaa fandtes i vedkommende Arts Hinder, dog kunde der i samme Kolbe være tydelig Forskjel paa Hindens og Gjærringens Vegetationer. De yngre Hinder bestode regelmæssig af Celler med et kraftigt Udseende; de gamle Hinders havde derimod tydeligt fremtrædende Væg og indeholdt stærkt lysbrydende Korn og uregelmæssige Legemer. Saadanne Celler havde tillige undertiden et smudsigt gulladent Udseende.

Sammenligne vi de sex undersøgte Hindeformer, saa finde vi, at de alle have udviklet mere langstrakte Celler og som Regel tillige mere sammensatte Kolonier, end der fandtes i den tilsvarende Udsæd. Stærkest træder dette frem hos Sacch. cerevisiæ I, Sacch. ellipsoideus I, og Sacch. ellipsoideus II, hvis Hindeformer som anført anvise disse tre Arter en helt anden Arts Plads end deres Bundgjærformer, et nyt Bevis for det Uholdbare i de Principer, hvorefter Reess's System er opført. Mærkværdig ved sin Udvikling af meget langstrakte, ofte traadformede og bakterielignende Celler er Sacch. Pastorianus III. Sacch. Pastorianus I og Sacch. Pastorianus II frembyde størst Lighed med hinanden; paa samme Maade er der stor Overensstemmelse imellem Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II. Trods Ligheden imellem vore sex Species,

træder der dog ved nøjere Betragtning Differenser frem; de ere imidlertid af en saa vanskelig og fin Art, at der egentlig ikke kan gives andet Udtryk derfor, end det, Figurgrupperne vise, og tages de enkelte Celler for sig, svinde alle Grændserne. Disse Antydninger havde, i hvor dunkle de end vare, dog Betydning for mig. I mine Undersøgelser over Mikroorganismerne er der nemlig fra deres Begyndelse bestandig gaaet en Bestræbelse efter at finde Karakterer hos de Former, hvormed Experimenterne bleve anstillede, for saaledes at erholde faste Udgangspunkter. En af Hovedopgaverne for min Forsken blev saaledes det fundamentale og i vor Tid saa brændende Spørgsmaal om Species og disses Begrændsning, og herved erholdt mine Arbejder deres fremtrædende botaniske Præg. Det var ligeledes fornemlig fra dette Synspunkt, at de foreliggende Undersøgelser bleve begyndte. Efterat de ovenfor omtalte Iagttagelser vare afsluttede, kunde Spørgsmaalet gives en bestemtere Form og underkastes en experimentel Behandling. Det Vigtigste herom meddeles i det følgende Afsnit. Som sædvanlig har der under Hovedarbejdet aabnet sig nye Sideveje; og om disse gives ligeledes sammesteds nogle Oplysninger.

EXPERIMENTER.

Saa vidt vor Viden for Øjeblikket gaar, maa vi antage, at det er en fælleds Betingelse for alle de i det foregaaende Afsnit omhandlede Hindedannelser, at vedkommende Mikroorganisme maa have direkte Adgang til atmosfærisk Luft, og at der, for at en kraftig Udvikling i den nævnte Retning skal indtræde, maa være en rigelig Tilførsel deraf. Forsøg med Saccharomyceter bekræfte dette. Tages f. Ex. en Række Pasteurske Kolber af nøjagtigt samme Beskaffenhed, hver indeholdende en ligestor Portion af den samme steriliserede Urt, og inficeres disse med en Gjærart, der er villig til at udvikle Hinde, f. Ex. Sacch. ellipsoideus II, da vil man, hvis Halvdelen af disse aldeles ensartede Kolber anbringes saaledes i Vand med deres bøjede Rør, at en Afspærring finder Sted, og at den under Gjæringen udviklede Kulsyre som Bobler maa bane sig Vej op igjennem Vandet, finde, at der efter nogen Tids Forløb vel optræder en Hindedannelse, men at den udvikler sig langsommere og langtfra saa kraftigt som i de Kolber, der ikke bleve afspærrede. Under forresten lige Forhold erholder man

ligeledes hurtigere Hindeudvikling i Chamberland-Kolberne (Fig. 2 p. 157) end i de Pasteurske, og endnu hurtigere og kraftigere, naar der anvendes de p. 164 afbildede Kogeflasker, overbundne med to Lag steriliseret almindeligt Filtrerpapir. Da det tilmed er let at tage Prøver op fra ethvertsomhelst Punkt af de i disse Flasker dannede Hinder uden i højere Grad at forstyrre dem, bleve de fortrinsvis benyttede af mig til mine Forsøg, og naar intet Andet siges, er der bestandig tænkt paa dem. Hver rummede 142 og indeholdt 70 Kub.-Cent. steriliseret klar, humlet Urt (c. 14 % Ball.), som den almindelig forefindes i Undergjæringsbryggerier. Det er den Næringsvædske, jeg hyppigst har benyttet i mine gjærings-fysiologiske Experimenter, og som saa ofte er omtalt i mine Afhandlinger. Udsæden blev forberedet paa samme Maade som til mine Undersøgelser over Askosporedannelsen og bestod af de samme sex Arter, hvilke der ere omtalte. Efterat vedkommende Celler i nogen Tid vare blevne dyrkede i den omtalte Ølurt ved almindelig Stuevarme, bleve unge. kraftige Celler herfra overførte i ny Urt af samme Beskaffenhed som den tidligere og saaledes dyrkede i henved 1 Døgn ved 26—27° C. Den gjærende Vædske blev derpaa fjernet og til Gjærbundfaldet sat en lignende Portion af den ovennævnte Urt, hvorpaa en Omrystning foretoges for at erholde en nogenlunde jævn Fordeling af Cellerne. Af denne Blanding udsaaedes en Draabe i hver af de beskrevne Flasker. At alle disse Arbejder bleve udførte saaledes, at en fremmed Infektion blev undgaaet, er en Selvfølge.

Forinden vi gaa videre, vil det være rigtigt at kaste et Blik paa de Celler, der dannede Udgangspunkterne for Experimenterne; de ere afbildede paa Tavle I og II i den Orden, hvori Arterne saavel i denne som i mine tidligere Afhandlinger behandles.

Fig. 1, Tavle I, forestiller Sacch. cerevisiæ I; den bestaar fortrinsvis af store, runde og ovale Celler, egentlig langstrakte optraadte ikke.

Cellerne af Sacch. Pastorianus I (Fig. 2 Tavle I) have i det Hele et andet Udseende; de ere nemlig hyppigst langstrakt pølsedannede, herimellem findes dog ogsaa, om end kun som underordnet Indblanding, større og mindre ovale og runde Celler, hvoraf mange ligne foranstaaende Art. Hvad der er sagt om Sacch. Pastorianus I, gjælder ogsaa om de to andre Arter af samme Gruppe, Sacch. Pastorianus II (Fig. 3, Tavle I) og Sacch. Pastorianus III (Fig. 1, Tavle II). Under de angivne Dyrkningsforsøg stemme de overhovedet alle tre væsentlig overens. Differenserne ere, som et Blik paa Afbildningerne viser, i hvert Fald meget ringe.

Sacch. ellipsoideus I (Fig. 2, Tavle II) slutter sig, hvad Formen angaar, nær til Sacch. ellipsoideus II (Fig. 3, Tavle II); begge disse Arter udmærke sig ved et overvejende Antal ovale og runde Celler; pølsedannede Celler forekomme dog ogsaa hos begge, men i Reglen næppe saa talrige, som de to Afbildninger vise.

Nogle af de foregaaende Arter adskille sig endvidere fra hverandre ved deres forskjellige Lysbrydning. Det er imidlertid en Karakter af en saadan Art, som kun den, der ved daglig Øvelse under saadanne Studier har udviklet sit Øje, vil kunne bemærke. De Forsøg, der ere blevne anstillede her paa Laboratoriet for at finde et videnskabeligt Udtryk derfor, have endnu ikke ført til noget Resultat.

Angaaende Udmaalingerne viste det sig, at der herved kun var temmelig ringe Oplysning at erholde: Den største Diameter af Sacch. cerevisiæ I var 11—5, hyppigst 8—6 Mikromillim. Hos de tre Arter af Gruppen Pastorianus var største Dimension 17—2$^1/_2$ hyppig 8—7 Mikromillim., hos Sacch. ellipsoideus I 13—2$^1/_2$, hyppig 7—6 Mikromillim., og hos Sacch. ellipsoideus II 11—3, hyppig 8—7 Mikromillim.

Sammenligne vi til Slutning de paa Tavle I og II fremstillede 6 Grupper af Celler, saa finde vi altsaa, at vi med temmelig Lethed kunne skjelne imellem 3 Afdelinger, hvoraf den ene omfatter Sacch. cerevisiæ I, den anden de 3 Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus, og den tredie de 2 Arter af Gruppen Sacch. ellipsoideus. Dette gjælder dog kun, naar Talen er om Renkulturer og kun under de foran nævnte Livsforhold.

Da de saaledes under de samme ydre Faktorer gjennem talløse Generationer i Aarevis dyrkede Arter bestandig have vist de samme Differenser, tyder dette paa en Forskjellighed hos Cellerne selv, paa Noget disse iboende. Vexle Livsbetingelserne, blive ogsaa, som vi i det Følgende skulle se, Forholdene anderledes. Jeg har allerede i tidligere Arbejder paavist ydre Faktorers Indflydelse paa Udviklingen af Cellernes Form[1]); vi skulle nu paa et nyt Omraade stifte nærmere Bekjendtskab med det rige Spil,

[1]) Se navnlig min Afhandling: Om Askosporedannelsen, p. 79. Det vises her, hvorledes Sacch. cerevisiæ (Øl-Undergjærform), efter en vis Behandling og derpaa følgende Dyrkning ved højere og lavere Varmegrader, ved 27° C. udvikler Celler med det normale, typiske Udseende, men ved 7$^1/_2$° C. derimod sammenfiltrede Kolonier med mycelieagtige Forgreninger.

den store Foranderlighed, som her kan optræde, en Foranderlighed saa stor, at Alt synes at være flydende. For den opmærksomme Iagttager vise Grændserne sig dog, det Faste i det Omskiftende. Vore Hovedbestræbelser skulle gaa ud paa at udfinde Lovene i den Strøm af Metamorfoser, som Experimenterne sætte i Gang.

Efterat de beskrevne Rendyrkninger af de sex Arter vare blevne udsaaede hver i sin Flaske med Urt, og Flaskerne atter tilbørlig overbundne med Filtrerpapir, bleve de strax stillede ind i Thermostaten ved en Række forskjellige Temperaturer. Der var sørget for, at Flaskerne kort før Infektionen havde den ønskede Varmegrad. Som et fælles Udgangspunkt ved den mikroskopiske Undersøgelse bleve bestandig de første Udviklingstrin af Hindedannelserne benyttede, saasnart de vare saa tydelige, at de med Sikkerhed kunde iagttages med det blotte Øje. De herfra stammende Vegetationer ere afbildede i Figurerne 1 og 2 paa Tavlerne III—VIII. Ogsaa den ved lang Henstand fremkomne Vegetation blev studeret, og herom gives ligeledes paa sit Sted Oplysning. Med hver Art blev der anstillet talrige Forsøg. Nedenfor meddeles Resultaterne.

Sacch. cerevisiæ I.

(Tavle III, Fig. 1—3.)

Ved 38° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 33—34° C. fandtes efter 9—18 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 2.
- 26—28° C....... efter 7—11 Døgn - .... Fig. 2.
- 20—22° C....... - 7—10 Døgn - .... Fig. 2.
- 13—15° C....... - 15—30 Døgn - .... Fig. 1.
- 6—7° C. .... - 2—3 Mndr. - .... Fig. 1.
- 5° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus I.

(Tavle IV, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C....... efter 8—15 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C....... - 15—30 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2, dog uden de store Kolonier.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus II.

(Tavle V, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C........ efter 8—15 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C........ - 10—25 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. Pastorianus III.

(Tavle VI, Fig. 1—3.)

Ved 34° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 26—28° C. fandtes efter 7—10 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 20—22° C........ efter 9—12 Døgn - .... Fig. 1.
- 13—15° C........ - 10—20 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2, dog uden de stærkt udviklede Kolonier.
- 2—3° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. ellipsoideus I.

(Tavle VII, Fig. 1—3.)

Ved 38° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 33—34° C. fandtes efter 8—12 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 26—28° C........ efter 9—16 Døgn - .... Fig. 1.
- 20—22° C........ - 10—17 Døgn - .... Fig. 1, dog i Reglen med Tilløb til Fig. 2.
- 13—15° C........ - 15—30 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7° C. .... - 2—3 Mndr. - .... Fig. 1.
- 5° C. optraadte ingen Hindedannelse.

Sacch. ellipsoideus II.

(Tavle VIII, Fig. 1—3.)

Ved 40° C. optraadte ingen Hindedannelse.
- 36—38° C. fandtes efter 8—12 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som......... Fig. 1.
- 33—34° C......... efter 3—4 Døgn - .... Fig. 1.

Ved 16—28 ° C. fandtes efter 4—5 Døgn svagt udviklede Hindepletter med en Vegetation som.... Fig. 1 og 2.
- 20—22 ° C......... efter 4—6 Døgn - .... Fig. 1 og 2.
- 13—15 ° C......... - 8—10 Døgn - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. .... - 1—2 Mndr. - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. .... - 5—6 Mndr. - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. optraadte ingen Hindedannelse.

I den foranstaaende Fremstilling af mine Undersøgelser over de sex Arters Hindedannelse ved forskjellige Temperaturer spille Afbildningerne en meget væsentlig Rolle. De ere udførte dels af mig selv, dels af Hr. Assistent Holm og alle tegnede efter Naturen. Jeg har lagt Vægt paa, at de skulle give saavel en fyldig som en nøjagtig Forestilling om de Former, hvormed vedkommende Art under de angivne Forhold optræder; at udtømme Stoffet kan der naturligvis slet ikke være Tale om; thi det er en Uendelighed af smaa Formforandringer, hver Arts Celler endog i den samme Kultur kunne fremvise; Opgaven maa derfor blive at gribe de fremtrædende Træk og at gjengive disse. I det Følgende ville vi først søge at erholde et Overblik over hver Arts Hindeformer for sig og derefter foretage en Sammenligning imellem de sex Arter paa een Gang for at se, hvilke Lærdomme vi derved kunne uddrage.

Vi begynde som sædvanlig med Sacch. cerevisiæ I. Fig. 2, Tavle III, forestiller, som det erindres, Vegetationen ved de højere Varmegrader (20—34 ° C.). Sammenlignes den med Udsæden (Fig. 1, Tavle I), ses det, at Kolonier ere blevne hyppigere, og at pølsedannede og lidt barokke Celler ikke ere sjældne. Større Lighed med Udsædens Celler have Vegetationerne ved Temperaturer fra 15—6 ° C. (Fig. 1, Tavle III).

Sacch. Pastorianus I stemmer i Kulturer ved 20—28 ° C. (Fig. 1, Tavle IV) nogenlunde overens med Udsæden (Fig. 2, Tavle I); Cellerne ere dog gjennemgaaende noget mindre og spinklere end dennes; (nogle af de langstrakte Celler i Fig. 1 ere mindre heldigt gjengivne). Ved Temperaturer under 15 ° C. bleve de i Reglen større og kraftigere, og ved 13—15 ° C. optraadte almindelig stærkt udviklede, mycelieagtige Kolonier af langstrakt pølsedannede Celler (Fig. 2, Tavle IV). Som sædvanlig iagttoges i de forskjellige Kulturer af denne ligesom af de øvrige Arter nogen Svingning i Forholdet mellem de ovale og de kort pølsedannede Celler paa den ene og de omtalte Kolonier paa den anden Side.

Ogsaa hos Sacch. Pastorianus II stemme Vegetationerne ved 20—28 ° C. (Fig. 1, Tavle V) temmelig nøje overens med Ud-

sæden (Fig. 3, Tavle I); ejendommelige ere kun de barokke, pølsedannede Celler, som her ofte udvikle sig. Vegetationerne ved Temperaturer fra 15—3 ° C. (Fig. 2, Tavle V) indeholde derimod overvejende ovale og runde Celler og have saaledes mistet deres typiske pastoriane Udseende.

Sacch. Pastorianus III, saa vi, udviklede ved 20—28 ° C. Vegetationer, der, ligesom Tilfældet var med de foregaaende, nogenlunde stemme overens med Udsæden. (Sammenlign Fig. 1, Tavle VI, med Fig, 1, Tavle II). Vegetationerne ved 15—3 ° C. (Fig. 2, Tavle VI) ere derimod tydelig forskjellige derfra ved deres stærkt udviklede Kolonier af langstrakt pølsedannede og traadformede Celler, hvorved de meget nærme sig til de gamle Hinders Celler i Fig. 3. Det er denne Art, hvis Kolonier have størst Lighed med et virkeligt Mycelium. Ved paa anden Maade at experimentere med den, fremkom ogsaa flere Tegn, som kunde tyde paa, at den muligvis vil kunne bringes til at udvikle en Skimmelvegetation.

Sacch. ellipsoideus I har ved 20—34 ° og 6—7 ° C. mindre og forholdsvis flere pølsedannede Celler (Fig. 1, Tavle VII) end Udsæden (Fig. 2, Tavle II). Ved 13—15 ° C. udmærkede dens Vegetationer sig ved sine rigt forgrenede, stærkt udviklede Kolonier af kort eller langstrakt pølsedannede Celler, ofte med krandsstillede Grene, aldeles forskjellige fra Udsæden og lig de gamle Kulturer i Fig. 3. Det er en af de interessanteste Metamorfoser, Experimenterne have fremkaldt.

I Sacch. ellipsoideus II have vi en Art, som er karakteristisk derved, at Cellerne i Hindedannelserne paa de første Stadier væsentlig stemme overens ved alle Temperaturer fra 3 til 38 ° C. (Fig. 1 og 2, Tavle VIII) og ligeledes i det Hele ligne Udsædens (Fig. 3, Tavle II); de ere kun gjennemgaaende lidt mindre end dennes. Ved 15 ° C. og ved de lave Varmegrader vare Cellerne maaske oftest lidt mere langstrakte end ved de højere Varmegrader.

De netop beskrevne Hindedannelser af Arterne Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus II og Sacch. ellipsoideus II mangle de stærkt udviklede, mycelieagtige Kolonier af langstrakte Celler, som ere afbildede i Figurerne 3 paa de tilsvarende Tavler, hvilke, som det erindres, forestille de flere Maaneder gamle Hindedannelser i Kulturer i Pasteurske Kolber ved almindelig Stuevarme. Først efterat Dyrkningen er fortsat i flere Døgn eller Uger udover den i Tabellerne angivne Tid, træder en saadan Udvikling frem; det er følgelig ikke vanskeligt at holde de to Stadier ude fra hinanden. Vegetationer af væsentlig samme Udseende som de

gamle Kulturers fandtes derimod strax i de begyndende Hindedannelser hos Sacch. Pastorianus I og i endnu højere Grud hos Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus I. Om alle Arterne gjælder det, at en i lang Tid fortsat Dyrkning i Almindelighed fremkalder Vegetationer med mere langstrakte Celler, hvorved de for hver Art under Figurerne 3 tegnede Former efterhaanden komme frem.

Idet Vegetationerne nærme sig Grændsetemperaturerne, faa de et krafteslöst Præg; dette gjælder navnlig om Udviklingen ved de højere Varmegrader, hvor Cellerne ogsaa hurtigt erholde et ligesom dødt Udseende. Forsøg med hver af Arterne have overhovedet lært os, hvorledes vi idetmindste til en vis Grad kunne beherske Udviklingen og bestemme Cellernes Formforandringer.

Ved at betragte de sex Tavler med Hindevegetationerne, modtage vi strax Indtryk af at staa overfor et ligesaa stort Antal forskjellige Gjærsvampe; vi skulle nu foretage en nøjagtig Sammenligning og derefter nærmere paavise de vigtigste Differenser.

Figurerne 1 paa Tavlerne IV, V, VI og VII vise stor indbyrdes Lighed; de forestille, som ovenfor meddelt, de tre Arter af Gruppen Pastorianus og Sacch. ellipsoideus I. Fra disse adskille sig temmelig tydeligt den tilsvarende Fig. 1, Tavle VIII, af Sacch. ellipsoideus II og den ligeledes tilsvarende Fig. 2, Tavle III, af Sacch. cerevisiæ I. Hindevegatationerne ved de højere Temperaturer yde os altsaa kun en temmelig ringe Hjælp til at skjelne mellem vore sex Arter. Anderledes bliver det derimod, naar vi betragte de begyndende Hindedannelser, som udvikle sig ved 13—15° C., og som ere aftegnede i Figurerne 2, Tavle IV, V, VI, VII og VIII, og i Fig. 1 paa Tavle III; de vise os iøjnefaldende Differenser mellem flere af Arterne. Særlig vigtigt for os er, at de to Arter, Sacch. Pastorianus II og Sacch. Pastorianus III, som begge ere Overgjærformer, og hvis Udsæds Celler (Fig. 3, Tavle I, og Fig. 1, Tavle II) ikke med Sikkerhed kunne skjelnes fra hverandre, her optræde med aldeles forskjellige Vegetationer; det Samme gjælder ligeledes om de to i Udsæden ensartede Arter Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II. (Sammenlign Fig. 2, Tavle VII, med den tilsvarende Fig. 2, Tavle VIII).

Naar vi forene den mikroskopiske Undersøgelse af Udsædens Celler med en lignende Undersøgelse af Hindernes, ville vi altsaa under de angivne Livsbetingelser efter Cellernes Form kunne bestemme vore sex Arter. Egentlige Vanskeligheder træde kun frem,

naar Spørgsmaalet er at skjelne mellem Sacch. Pastorianus I og Sacch. Pastorianus II; her maa da i tvivlsomme Tilfælde andre Karakterer hjælpe os. Fra mine tidligere Undersøgelser erindres det, at Temperaturmaximum for Askosporernes Udvikling er lidt højere hos Sacch. Pastorianus I end hos Sacch. Pastorianus II, og at hin er en Undergjærform, denne derimod en Overgjærform.

Tidsbestemmelserne i foranstaaende Tabeller have kun til Hensigt at give en omtrentlig Forestilling om, hvor lang Tid der ved de forskjellige Varmegrader medgaar, førend de første makroskopisk kjendelige Hindedannelser vise sig. At finde et aldeles nøjagtigt Udtryk herfor er i Følge Sagens Natur næppe muligt. Allerede i de i Gjæringens Begyndelse dannede Skumblærer optræde de Gjærceller, ved hvis Formering senere, efterhaanden som Skummet forsvinder, Overfladen hurtigere eller langsommere dækkes med Hinde; skarpe Grændser i denne Udviklingsgang findes ikke, og de forskjellige Forsøgsrækker med de samme Species stille sig ogsaa noget forskjelligt. Større Interesse for os have Minimums- og Maximumstemperaturerne; disse ere, som Tabellerne vise, forskjellige for de forskjellige Arter.

Hos Sacch. cerevisiæ I og Sacch. ellipsoideus I standser saaledes Hindeudviklingen ved en Temperatur af henved 38 og mellem 5 og 6° C. Disse Grændser findes hos de tre Arter af Gruppen Pastorianus i Nærheden af 34 og af 3° C. Sacch. ellipsoideus II har samme Minimumstemperatur som den foregaaende Gruppe, men har den højeste Maximumstemperatur af alle de sex Arter, nemlig mellem 38 og 40° C. Efter Minimums- og Maximumstemperaturerne lade de sex Arter sig altsaa inddele i tre Grupper.

Ved at sammenligne de i mine Undersøgelser over Askosporedannelsen fundne Temperaturgrændser med de netop omtalte ses, at de hos samme Art ere indbyrdes forskjellige. En Overensstemmelse mellem Udviklingen af Askospore- og af Hindedannelsen viser sig dog deri, at de begge ere afhængige af Temperaturerne saaledes, at de indenfor de Grændser, hvor de kunne finde Sted, foregaa langsommere ved de lave og hurtigere ved de højere Varmegrader. Ved de Varmegrader, der ligge nær Minimums- og Maksimumstemperaturerne, var Hindeudviklingen, som berørt, tillige altid meget svag, og der optraadte her aldrig en fuldstændig dækkende Hinde.

Ved Temperaturer over 13° C. havde Sacch. ellipsoideus II den hurtigste og kraftigste Udvikling; dette var saa iøjnefaldende, at man alene herved altid med Sikker-

hed kunde kjende de Flasker, hvori denne Art var, fra de andre. Men ved de derefter følgende lavere Varmegrader stod den noget tilbage for Sacch. Pastorianus III. En fuldstændig dækkende Hinde, der som et tykt Lag lejrede sig over hele Vædskens Overflade, udviklede sig f. Ex. hos Sacch. ellipsoideus II ved 22—23° C. i Løbet af 6—12 Døgn, medens den, for saa vidt der overhovedet indtraadte en saadan kraftig Udvikling hos de andre fem Arter, først var tilstede efter mere end den tredobbelte Tid. Ogsaa ved almindelig Stuevarme med dens til Døgnets forskjellige Tider vexlende Temperatur udmærkede denne Art sig ved sin hurtige og kraftige Udvikling af Hinde. De lavere Varmegrader, hvorom der her er Tale, navnlig om Natten, bevirkede dog, at Udviklingen foregik langsommere end ved den forannævnte Temperatur, og at Sacch. Pastorianus III kunde rivalisere med den. Forsøgene ved Værelsets Temperatur bleve anstillede i de Pasteurske Kolber ($^1/_8$ og $^1/_2$ Liter), men med den samme Næringsvædske som i de tidligere omtalte Kogeflasker. Reglen var da, at de to nævnte Arter efter henved tre Maaneders Henstand havde udviklet en tyk Hinde, som dækkede hele Overfladen af Vædsken, hvorimod de andre fire Arter langtfra vare komne saa vidt; Sacch. ellipsoideus I stod som Regel længst tilbage.

Saaledes som de p. 179 beskrevne Forsøg bleve udførte, vare Flaskerne, der bleve stillede ind i Thermostaten ved de høje Temperaturer, udsatte for en mere eller mindre stærk Fordampning; herved blev altsaa en ny Faktor indført, der kunde antages at have en kjendelig Indflydelse paa Resultaterne. I den Anledning udførte jeg en Række kontrollerende Forsøg ved Varmegrader mellem 22 og 40° C. i en med Vanddampe mættet Atmosfære, men forøvrigt aldeles som foran beskrevet. Det viste sig da, at Udviklingen vel som Regel foregik lidt hurtigere og kraftigere, men at Hindernes Vegetationer vare af samme Art som ovenfor omtalt, og at de der angivne Temperatur-Grændser ej heller nu bleve overskredne.

I den forangaaende Undersøgelse er der, som flere Gange fremhævet, kun taget Hensyn til de egentlige Hindedannelser paa selve Vædskens Overflade, og Vegetationerne, som udvikle sig ovenover denne paa Glassets Væg, Gjærringdannelserne, ere ikke blevne behandlede. De udvikles hos Undergjærformerne paa samme Maade som Hinden, hos Overgjærformerne tillige derved, at der strax i Gjæringens Begyndelse aflejres en kjendelig Gjærmasse, hvorved et helt Bælte paa een Gang kommer frem.

Det blev p. 184 blandt andet fremhævet, at Hindedannelsen hos Sacch. cerevisiæ I og hos Sacch. ellipsoideus I standser i Nærheden af 38°, og hos Sacch. ellipsoideus II i Nærheden af 40°, medens dette hos de tre Arter af Gruppen Pastorianus allerede sker ved en Varmegrad under 34° C. Dette staar i Forhold til, hvad jeg i en tidligere Afhandling har berørt, nemlig at Arternes Maximumstemperaturer for Knopskydningen ikke ere de samme. Knopskydningen og Gjæringen finde imidlertid Sted udover en Temperatur, ved hvilken ingen Udvikling af Hinde kan indtræde. Hos de tre første Arter iagttog jeg saaledes livlig Gjæring og Knopskydning ved 38—40°, og hos de tre sidstnævnte ved 34° C. Men medens de tre Arter af Gruppen Pastorianus under de ovenfor beskrevne Dyrkningsforhold vare døde efter et Ophold af 11 Døgn (og muligvis endnu hurtigere) ved 36—38°, vare de andre tre Arter endnu levende efter et lignende Ophold ved 38° C. Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II udholde under de nævnte Omstændigheder et endnu længere Ophold; Sacch. cerevisiæ I staar i denne Henseende noget tilbage for disse to Arter. Idet vi tilmed erindre, at de to Arter af Gruppen Pastorianus ogsaa ere Overgjærformer, komme vi følgelig til den Erkjendelse, at det ikke er rigtigt, naar man har ment at kunne opstille den Regel, at Overgjærformerne skulde kunne udvikle sig ved højere Temperaturer end Undergjærformerne. Omvendt gives der Overgjærformer, som ved lave Temperaturer udvikle sig kraftigere end visse Undergjærformer (f. Ex. Sacch. Pastorianus II og Sacch. Pastorianus III modsat Sacch. ellipsoideus I). Efter foranstaaende Synspunkter kunne vi altsaa dele vore sex Arter i to Grupper, og vi lære, at de Arter, som have de højeste Temperaturmaxima for Knopskydningen og Gjæringen, ogsaa have dem for Hindedannelsen.

Ved at undersøge Bundgjæren i de beskrevne Dyrkningsforsøg med de smaa Kogeflasker iagttog jeg, at den i de fleste Tilfælde havde det for Gjærmasser almindelige dejgagtige Udseende, men at den derimod i andre Tilfælde havde dannet et hindeagtigt, foldet Lag paa Bunden af Flasken. Som saadant optraadte den hos Sacch. Pastorianus II og Sacch. Pastorianus III. Hos førstnævnte var den dog dejgagtig ved de fleste Temperaturer og blev vistnok som Regel først hindeagtig ved Varmegrader under 7° C.; hos sidstnævnte udvikledes dejgagtig Bundgjær i Kulturerne ved Varmegrader fra 35—22° C., derefter viste der sig Tilløb til at danne

Bundgjær med hindeagtigt, foldet Udseende, og ved Varmegraderne fra 14—1° C. indtraadte dette paa en udpræget Maade[1]).

Den hindeagtige Bundgjærmasse hos de to nævnte Overgjærformer bestod hovedsagelig af kraftigt udviklede, mycelieagtige Kolonier og frembød følgelig et mikroskopisk Billede, der var tydelig forskjelligt fra Udsædens. Naar Kulturerne stode tilstrækkelig længe, viste det sig overhovedet, at Arternes Bundgjærformer i flere Tilfælde bleve forskjellige fra Udsædens, og at der herigjennem ogsaa kan erholdes morfologiske og fysiologiske Kjendetegn. Ved at foretage Dyrkningsforsøgene paa fast Næringsbund ved høje Temperaturer, havde jeg Lejlighed til at gjøre lignende Iagttagelser. I disse Studier have vi saaledes atter erholdt Bevis for, hvilken Indflydelse Temperaturerne udøve. Samme Art kan under den forskjellige ydre Indvirkning optræde paa helt

---

[1]) Dette ejendommelige Bundfald har stor Lighed med det, som dannes af gamle, udpinte Vegetationer af forskjellige Saccharomyceter, naar de under gunstige Ernæringsforhold bringes til ny Udvikling. Hos mine tre Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus iagttog jeg det ofte, naar jeg fra flere Maaneder gamle Kulturer i Saccharose eller i Urt inficerede ny Urt og derpaa foretog Dyrkningen ved 25—28° C., derimod, saavidt jeg erindrer, aldrig hos de tre øvrige Arter. I flere Tilfælde bestode de saaledes dannede Bundfald ikke blot af hindeagtige Lapper, men tillige af osteagtige, smaa Brokker. Et Bundfald, som udelukkende var dannet af sidstnævnte, var ligeledes under de angivne Forhold hyppigt. I begge Tilfælde var det løstliggende, og ved Rystning blev Vædsken ikke uigjennemsigtig og plumret; den holdt sig bestandig skinnende blank, ogsaa under den kraftigste Gjæring; man kunde saaledes tydelig iagttage, hvorledes Gjærflokke stege op fra Bunden til Overfladen og atter sank ned. Ved fra disse Kulturer at inficere nye lignende Kolber erholdt jeg i nogle Tilfælde Gjæringer med det samme ejendommelige Udseende og det samme mærkværdige Bundfald; men fortsattes Dyrkningen gjennem et tilstrækkeligt Antal Kulturer, viste det sig altid, at den iagttagne fysiologiske Omdannelse kun var foreløbig; de sædvanlige Forhold indtraadte atter, den udviklede Gjær lejrede sig paa Kolbens Bund som en dejgagtig Masse, og Urten blev under Kulsyreudviklingen uklar og plumret. Vi lære heraf blandt andet, at man ved en bestemt Behandling af flere forskjellige Gjærarter kan erholde osteagtig Gjær (levûre caséeuse).

Naar den udsaaede Gjær var tilstrækkelig gammel og afkræftet, fremkaldte den tillige en Affarvning af Vædsken, saa at det deraf dannede Øl fik en lysere Farve end ellers. Dette iagttog jeg ret hyppig saavel hos de ofte nævnte sex Arter som ogsaa hos de to rendyrkede Undergjærracer Nr. 1 og Nr. 2, som jeg har indført i Industrien.

forskjellig Maade, med helt forskjelligt Præg; men omvendt viser det sig ogsaa, at der er Grændser for denne Indvirkning, og at vore sex Arter reagere forskjelligt, et Tegn paa, at der gjør sig indre, de specielle Celler selv iboende Faktorer gjældende.

Et af de praktiske Resultater af mine Studier over Alkoholgjærsvampene bestaar deri, at der herigjennem har udviklet sig en Methode til Analyser af Bryggerigjær. Det er overhovedet for en stor Del under Paavirkning fra Praxis selv, at mine Arbejder ere sprungne frem. Da jeg for omtrent en halv Snes Aar siden begyndte at arbejde for Carlsberg's store Bryggerier og navnlig havde den Opgave at undersøge Gjæren og følge dens Udvikling under Gjæringens Gang, følte jeg ofte, hvor Lidet der kunde udrettes paa dette Omraade. Analysen, som den da var mulig, gik ikke ud over at afgjøre, om der var Bakterier og Skimmelsvampe tilstede eller ej. At der i selve Gjærmassen, i de tilsyneladende ensartede Saccharomyces-Celler laa store og vigtige Hemmeligheder skjulte, og at det netop var der, at Angrebet skulde finde Sted, mærkede jeg vel temmelig snart, men den foreliggende Literatur gav ingen Opklaring. Under Trykket af det Trøstesløse i mit Arbejde og under Impulsen fra de ubesvarede Spørgsmaal, som den praktiske Drift daglig stillede til mig, saa jeg, at jeg enten maatte bryde en ny Vej eller opgive det Hele. Jeg besluttede da at prøve, hvad jeg formaaede. Skjøndt jeg ikke i Literaturen fandt det, jeg søgte, er det dog en Selvfølge, at den ydede mig en væsentlig Hjælp, navnlig vilde jeg næppe uden de betydningsfulde Forarbejder af Reess og Pasteur have været i Stand til at føre mit Værk igjennem.

Som et af Udgangspunkterne for mine Forsøg tog jeg en Undergjærmasse, der, efter hvad der forelaa, maatte bestemmes som eet Species, Sacch. cerevisiæ, og erklæres for ren, uden fremmed Indblanding. Jeg gik da ud fra den Forudsætning, at disse tilsyneladende ensartede Celler dog maaske kunde tilhøre flere Arter, og at jeg i saa Fald vel ogsaa vilde kunne opdage Skjelnemærker imellem dem. For at faa de stillede Spørgsmaal besvarede, udførte jeg først en stor Række Dyrkningsforsøg, hver med Udsæd af een eneste Celle efter de i min foregaaende Afhandling meddelte Methoder (p. 153 o. flg.), og med disse Renkulturer blev der dernæst paa forskjellig Maade experimenteret.

Det første Holdepunkt, jeg opdagede, var Udviklingsgangen af Sporerne hos Saccharomyceterne. I Afhandlingen af D'hr. Assi-

stenter Holm og Poulsen[1]) er det vist, at de derved vundne Resultater, naar de paa en fornuftig Maade anvendes i den praktiske Analyse, ikke blot give denne Sikkerhed, men tillige en stor Finhed.

Deraf udviklede sig som af sig selv mine Studier over Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe, og Methoder til en planmæssig Udvælgen af bestemte Racer i Rendyrkninger for den store Industri.

Alle disse i deres Væsen strængt videnskabelige, men dog for Praxis direkte udførte Arbejder staa eller falde med den Forudsætning, at Saccharomyceterne optræde som Species, Varietet eller Race, at der, kort sagt, er Konstans i de af mig udfundne Karakterer. Speciesbegrebet, saaledes som det findes fremstillet i Reess's System, er, som vi oftere have havt Lejlighed til at erfare, forfejlet, og Pasteur indtager intet bestemt Standpunkt i den Retning. Virkelig Oplysning om dette saa vigtige Spørgsmaal kan naturligvis kun erholdes gjennem i Aar og Dag planmæssigt udførte Dyrkningsforsøg med absolute Renkulturer; saadanne ere, hvad Saccharomyceterne angaa, for første Gang satte i Værk af mig.

Det saaledes rejste Grundspørgsmaal er ikke løst endnu, men sikkert er det, at de hidtil anstillede Forsøg have lært, at Saccharomyceterne omfatte Former med høj Grad af Konstans, og at Alt viser hen til, at der i denne Slægt findes Arter af samme Værdi som hos de højere Svampe. Ogsaa mine foran meddelte Studier over Hinderne have bekræftet dette og givet nye Bidrag i den Retning. Det vil blive Opgaven for et senere Arbejde at bestemme paa en skarpere Maade, end det er sket, hvorledes disse indgaa som Led i den analytiske Methode.

Efterat de af mig rendyrkede Racer saavel i Ind- som i Udlandet vare blevne indførte i den store Praxis, kunde man der under ofte meget forskjellige Dyrkningsforhold gjøre vigtige Iagttagelser, om end ikke aldeles med den videnskabelige Strænghed som i Laboratoriet. Herved gaves værdifulde Bidrag til den levende Diskussion, som mine Afhandlinger fremkaldte. I de fleste Tilfælde blev der saavel af Theoretikere som af Praktikere fældet en gunstig Dom over det Nye, jeg havde ført frem, men Angreb undgik det ikke. I Spidsen for mine Modstandere stillede Direktøren for Forsøgsstationen i Berlin, Professor Dr. Delbrück, sig.

---

[1]) Holm og Poulsen: Hvor ringe en Infektion af »vild Gjær« kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af Sacch. cerevisiæ? (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 4 Hefte, 1886, p. 147).

Tildels støttende sig til Nägeli's Lærdomme, angreb han overhovedet mine Forsøg paa at indføre Rendyrkninger af bestemte udvalgte Racer i Industrien og advarede mod min botaniske Methode. I Tilslutning hertil tog den ansete Gjæringskemiker, Dr. Hayduck, fat paa Spørgsmaalet, om Ølgjærsvampen som Undergjær optræder med forskjellige Racer med konstante Egenskaber eller ej. Efter den endnu i Almindelighed gjældende Opfattelse betegner han al Øl-undergjær som eet Species, og han mener, at de Differenser, hvormed den kan optræde, ere af rent forbigaaende Natur uden Konstans, saa at de under forandrede Dyrkningsforhold let og hurtigt udviskes. Det er i Virkeligheden den samme Lære, der findes hos de berømteste Forskere paa dette Omraade, og som herfra er vandret ud i populære Skrifter og Lærebøger. I den nyeste Tid har den faaet en Art Støtte i Nägeli's bakteriologiske Theorier. Indtil 1881 havde jeg, ledet af den almindelige Strøm, den samme Opfattelse, hvilket ses paa flere Steder i mine indtil da offentliggjorte Afhandlinger, og det var først, efterat jeg havde anstillet en stor Række selvstændige Forsøg, at jeg fik et andet Syn paa Sagen. Det Resultat, hvortil jeg paa dette Punkt er kommen, kan udtrykkes saaledes: Den Forestilling, der hidtil i Literaturen har været knyttet til det systematiske Navn Sacch. cerevisiæ (Undergjærform) er urigtig; thi der indbefattes derunder ikke een, men flere morfologisk og fysiologisk forskjellige Former, hvilke man med den samme Ret, som det er sket med de saakaldte »vilde Gjærarter«, Sacch. Pastorianus, Sacch. ellipsoideus o. s. v., kunde betegne med særegne Artsnavne. Disse Former kunne skjelnes fra hverandre ved bestemte Kjendetegn, og de have idetmindste en høj Grad af Konstans[1]).

Idet vi indtil videre anvende de gamle systematiske Navne, maa vi vel erindre, at vi ikke have Ret til at knytte de Forestillinger dertil, som tidligere fulgte dem. Det er denne Fejl, Dr. Hayduck har begaaet. Han har i sine Forsøg havt en Undergjær,

---

[1]) I en tidligere Afhandling har jeg angaaende det foreliggende Spørgsmaal fremhævet, at der endnu ikke kan være Tale om at afgjøre, hvad der hos Saccharomyceterne skal kaldes Species, Varietet, Race eller Afændring. Jeg har derfor ejheller i nærværende Afhandling villet indføre nye systematiske Navne. For overhovedet at kunne tale om disse Gjenstande, vil man imidlertid vanskelig kunne undgaa at benytte Betegnelser som Art eller Race; disse Ord betyde da kun, at der er Tale om Organismer, som i en eller anden Retning adskille sig fra hverandre ved konstante Karakterer.

som efter den tidligere Undersøgelsesmethode kunde bestemmes som ren Sacch. cerevisiæ, og hildet i den gamle Opfattelse, at der her maatte være eet Species tilstede, har han arbejdet med den som saadan uden som jeg at opløse den i sine eventuelle forskjellige Bestanddele.

Angrebene fra mine ærede Kollegaer i Berlin have bevirket, at Sagen er bleven belyst fra flere Sider, og de have fremkaldt flere ypperlige Forsvarsskrifter derfor[1]). Ogsaa blev den i det Hele gunstig bedømt paa den i Berlin i April 1885 afholdte Generalforsamling. Striden er ikke afsluttet, men foreløbig indtraadt i et roligere Stadium, og den almindelige Anskuelse derom kan vistnok siges at have erholdt sit Udtryk i nedenstaaende korte Résumé, som Bayerns berømte zymotekniske Skribent Professor, Dr. Lintner sen. nylig gav deraf[2]):

»Efterat forskjellige Bryggerier have anvendt Carlsberg's rendyrkede Gjærracer, og den videnskabelige Station i München ogsaa har indført rendyrkede Münchener Racer i Bryggerierne, lade de erholdte Kjendsgjerninger sig sammenfatte i følgende Punkter:«

1) »Ved Indblanding af saakaldet »vild Gjær« kan en ellers normal Bryggerigjær blive ude af Stand til at frembringe et velsmagende og holdbart Øl«.

2) »En saadan Indblanding kan indtræde ved de om Sommeren og Efteraaret i Luftens Støv indeholdte vilde Gjærarter eller ogsaa ved Smitte fra Bærme eller anden Gjær«.

3) »Ved at anvende Hansen's Methoder til Rendyrkning og

---

1) Jeg selv har hidtil ikke udtalt mig i denne Strid; de vigtigste af de fremkomne Indlæg deri skyldes:
Delbrück (Wochenschrift für Brauerei. Berlin 1885, p. 126).
Hayduck (Sammesteds, p. 314).
J. C. Jacobsen (Sammesteds, p. 126, og Zeitschrift für das ges. Brauwesen. München 1885, p. 117).
Aubry (Zeitschrift für das ges. Brauwesen. München 1885, p. 133 og p. 237).
Bĕlohoubek (Der Böhmische Bierbrauer, Prag 1885, p. 498).
Alfred Jørgensen (Allgemeine Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Wien 1885, p. 489 o. flg., p. 609 o. flg. Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. Nürnberg 1885, p. 359, og Festnummeret sammesteds).
Thausing (Allgemeine Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Wien 1885, p. 755).
Will (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. Nürnberg 1885, Festnummeret).

2) C. Lintner, Zymotechnische Rückblicke auf das Jahr 1884. (Zeitschr. für das ges. Brauwesen, München 1885, p. 399).

Analyse kan man atter af en saadan uren Gjærmasse erholde den ønskede Bryggerigjær i ren og god Tilstand».

4) »Den rendyrkede Gjær viser i en fremragende Grad igjen de Egenskaber, som den oprindelige Gjær havde, før Rendyrkning blev nødvendig; dette gjælder saavel om Forgjæringsgraden som om Smagen og Holdbarheden af det paagjældende Øl«.

5) »Der existere forskjellige Racer af normal Ølundergjær (Sacch. cerevisiæ) med særegne Egenskaber, der som Raceejendommeligheder bevare sig konstante«.

At jeg selv har et skarpt Blik for, hvad der endnu fattes, forinden min Bygning kan siges at være grundmuret, derom give nærværende nye Undersøgelser et Vidnesbyrd. Ovenstaaende Redegjørelse skal tjene til at klare Forestillingerne om mine Arbejders Stilling, særlig med Hensyn til de fremhævede Grundspørgsmaal, og herved fjerne de Misforstaaelser, der ere fremkomne.

I Forbindelse med Udviklingen af Hinderne staa kemiske Omdannelser af den nedenunder værende Vædske; disse vise sig blandt andet deri, at der foregaar en Affarvning. Det efter Hovedgjæringens Slutning dannede Øl er mørkebrunt ligesom Urten, hvormed Forsøget blev anstillet, og der er ikke for Øjet nogen stor Forskjel i Farven. En saadan træder imidlertid frem, naar Ølvædsken staar hen en kortere eller længere Tid, og dens Overflade dækkes med Hinde. Denne Farveforandring kan da i høj Grad være paafaldende, idet den oprindelig mørkebrune Vædske endog kan blive lysegul. En saadan Affarvning har jeg ikke blot hyppig iagttaget hos de foran nævnte sex Arter, men overhovedet hos alle de talrige Saccharomyceter, hvormed jeg i Aarenes Løb experimenterede, og den finder ligeledes Sted hos Gjærceller, der ikke formaa at udvikle endogene Sporer, muligvis dog ikke hos alle Arter.

I Forsøgene ved Værelsets Temperatur er denne Affarvning især i høj Grad fremtrædende i Kulturer med Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III, de to Arter, der under de tilstedeværende Forhold regelmæssig have de kraftigste Hindeudviklinger. Ligesom Hindedannelsen indtræder ogsaa Affarvningen hurtigere ved højere end ved lavere Varmegrader; saaledes var den f. Ex. i de beskrevne Dyrkningsforsøg med Sacch. ellipsoideus II ved Varmegrader mellem 26 og 35° C. meget iøjnefaldende allerede efter 7 Døgns Forløb.

Denne Affarvning minder meget om den, Saccharomyceterne under andre Livsforhold kunne fremkalde, og som jeg kortelig har berørt i Anmærkningen p. 187.

De foran beskrevne Forsøg ere udførte under visse bestemte Livsbetingelser for vedkommende Organismer; ændres disse, blive ogsaa vore Resultater anderledes; en ringe Forandring i den angivne Forsøgsanordning faar dog ikke nogen kjendelig Indflydelse. Det er berørt, hvilken Betydning den mere eller mindre rigelige Adgang af Luften har; i det Følgende skal fremføres nogle Exempler paa den Rolle, Næringsvædskens kemiske Sammensætning spiller. Til de p. 173 o. flg. omtalte Undersøgelser blev der, som det erindres, benyttet Pasteurske Kolber med steriliseret Urt som Næringsvædske, hvilke, efter at være blevne inficerede hver med sin Gjærart, derpaa bleve hensatte ved almindelig Stuevarme. Aldeles paa samme Maade foretoges til Sammenligning efterstaaende nye Forsøg med to af de ofte nævnte Arter, nemlig Sacch. cerevisiæ I og Sacch. ellipsoideus II, kun med den Forskjel, at der blev benyttet andre Næringsvædsker. Fra hver Art inficeredes 4 Kolber; to af disse, A, indeholdt et vandigt Afkog af Gjær, to, B, saadant Gjærvand og Saccharose, to, C, destilleret Vand og 10 % Saccharose, og to, D, destilleret Vand. Efter 3 Maaneders Forløb fandtes paa Overfladen af Vædsken i de to Kolber A ret talrige hvidladne, smaa Gjærpletter, vistnok nedadtil halvkugle- eller kegleformede og mere eller mindre flade paa den opadvendte Del; de optraadte enkeltvis eller samlede i Grupper. I B fandtes et meget ringere Antal deraf, og i C og D slet ingen. Denne Udvikling kom i Løbet af et Aar ikke videre. Begge Arterne stemmede overens i ovennævnte Forhold og ligeledes deri, at de omtalte Hindepletters Celler i alt Væsentligt lignede den tilsvarende Udsæds, altsaa Fig. 1, Tavle I (Sacch. cerevisiæ I), og Fig. 3, Tavle II (Sacch. ellipsoideus II). Hos den første fandtes desuden temmelig faa og hos den sidste temmelig talrige Celler med Askosporer i Kolberne A og kun i disse.

Hovedresultatet var, at der kun i Kolberne med Gjærvandet optraadte en tydelig Hindedannelse, men at denne ingensinde, ejheller efter lang Henstand, naaede udover de første Udviklingsstadier, og at den følgelig stod meget tilbage for den, der under lignende Forhold plejer at udvikle sig paa Urt. De øvrige Vædsker gave et endnu ugunstigere Resultat. Ved at sammenligne de nylig citerede Figurer med de tilsvarende Fig. 3, Tavle III, og Fig. 3, Tavle VIII, ses det tydeligt, at der ogsaa var Forskjel paa

de Hindevegetationer, som Gjærvandet, og paa dem, som Urten under lignende Omstændigheder fostrede.

Denne foreløbige Undersøgelse giver et nyttigt Vink om, ad hvilken Vej det vil være muligt at udfinde de for Hindedannelsen gunstigste Betingelser, hvad Næringsvædskens kemiske Sammensætning angaar.

Ogsaa Bundgjæren blev undersøgt. I Kolberne A, C og D stemmede den temmelig nøje overens med den tilsvarende Udsæd, Kolberne B (Gjærvand + Saccharose) bestod den derimod af Vegetationer, som havde større Lighed med de nylig anførte Fig. 3, Tavle III (Sacch. cerevisiæ I), og Fig. 3, Tavle VIII (Sacch. ellipsoideus II).

Bundgjæren i Kolberne med Gjærvandet og Vandet, A og D, indeholdt temmelig talrige Celler med Askosporer; disse manglede derimod fuldstændigt i Kolberne B og C, hvori der var Sukker tilstede, og hvor kraftig Gjæring indtraadte.

Med Mycoderma vini har Winogradsky fornylig anstillet experimentelle Undersøgelser over Ernæringsforholdenes Indflydelse paa Cellernes Form og Udvikling[1]). For at sikkre sig Ensartethed i Iagttagelsesmaterialet, sørgede han for, at de i hans Kultur-Apparater udsaaede Celler alle stammede fra een eneste Modercelle; dette opnaaede han ved at anvende den af mig angivne Fremgangsmaade. Der blev udført to Forsøgsrækker; i den ene vexlede Næringsvædskernes organiske Bestanddele, medens de mineralske forbleve konstante; i den anden vare Næringsvædskerne derimod forskjellige fra hverandre med Hensyn til deres mineralske Bestanddele, medens de organiske Stoffer vare de samme. Det viste sig, at Cellernes Form under disse vexlende Ernæringsforhold ikke holdt sig konstant; i enhver af de anvendte Forsøgsvædsker blev der nemlig paavist visse for dennes Vegetation ejendommelige Habitusforandringer.

En Undersøgelse, der tildels bevæger sig paa samme Omraade som den foran omtalte, men som næppe har den samme Værdi, er forrige Aar offentliggjort af Dowdeswell[2]). Denne Forsker antager det som en bevist Sag, at Sacch. cerevisiæ kun er en Udviklings-

---

1) Winogradsky, Ueber die Wirkung äusserer Einflüsse auf die Entwickelung von Mycoderma vini, (Botan. Centralblatt, XX B, 1884, p. 165).

2) Dowdeswell, On the occurrence of variations in the development of a Saccharomyces. (Journal of the Royal Microscopical Society. London. Ser. II. Vol. V. 1885, p. 16).



form af Penicillium glaucum, og beretter derefter om Forsøg, som han anstillede med en skimmelagtig Svamp fra Plantedele i fugtige Kamre med 10 % Rørsukkeropløsning som Næringsvædske. Ifølge hans Beretning udviklede der sig under disse Forhold talrige Celler hørende til en ny Saccharomyces-Art, og de formerede sig ikke blot paa den sædvanlige Maade ved Knopskydning og endogen Sporedannelse, men frembragte tillige et Mycelium. Som det vigtigste Resultat fremhæves den Iagttagelse, at disse saa forskjellige Udviklingsformer ere komne frem under de samme ydre Forhold, hvorfor de maa antages at skyldes en Arten selv iboende Tilbøjelighed til Variation. Han ser heri en Bekræftelse paa Darwin's Lære, nemlig at iblandt de to Faktorer, som betinge en levende Organismes Variation (Organismens egen og de ydre Forholds Natur), er det den første af disse, som maa antages at være den vægtigste. Hvad selve Undersøgelsen angaar, da strider det mod alle mine Iagttagelser, at Sporerne skulde kunne udvikle sig under de angivne Omstændigheder; der er derfor næppe her Tale om en Saccharomycet. Havde han Ret, vilde hans Arbejde være af stor Betydning i flere Henseender. Saaledes som det er affattet, gjør det imidlertid bestemt Indtryk af at være et af de talrige vilde Skud, som Læren om Pleomorfismen hos Saccharomyceterne har fremkaldt.

I mine Undersøgelser over Hindedannelserne havde jeg i særlig Grad min Opmærksomhed henvendt paa, om Cellerne i disse udviklede Askosporer eller ej. Det viste sig da, at dette, naar Næringsvædsken var Ølurt, kun rent undtagelsesvis fandt Sted; thi uagtet jeg i den lange Tid, der medgik til de foran beskrevne Forsøg, undersøgte et meget stort Antal Præparater, iagttog jeg dog kun i eet eneste Tilfælde nogle faa Celler med disse Formeringslegemer; de optraadte tilmed ikke i Hinden men i den Gjærringdannelse, der havde strakt sig opad Kolbens indvendige Væg, ovenover Vædskens Overflade.

Anderledes stillede det sig derimod i de ovenfor omtalte Forsøg, hvor der i Stedet for Ølurt blev benyttet Gjærvand som Næringsvædske. Vi have nemlig der hørt, at der i de svage Tilløb til Hindedannelse, som fandt Sted i Kulturerne med de to Arter, Sacch. cerevisiæ I og Sacch. ellipsoideus II, i Kolberne A, udviklede sig temmelig talrige Celler med Askosporer. Det er værd at lægge Mærke til, at de derimod ikke optraadte i de Kolber, hvor der

til Gjærvandet var sat Saccharose. Vi kunne af de forangaaende Iagttagelser vistnok uddrage den Slutning, at **Askosporer ikke optræde, hvor en Forgjæring af Sukker kan finde Sted, og som Regel ej heller, hvor Forholdene tilstede en kraftig Hindeudvikling.** At disse Formeringslegemer udvikle sig i Kulturer med Gjærvand har forøvrigt intet Paafaldende ved sig, thi de kunne, som jeg tidligere har vist, ogsaa udvikle sig i denne Vædskes Bundgjær.

Efterhaanden som den mikrokemiske Teknik har udviklet sig til en større Fuldkommenhed, er ogsaa vor Viden om Cellekjærnens Bygning og dens Optræden i høj Grad bleven forøget. Navnlig gjennem Schmitz's Undersøgelser ere vi blevne oplyste om, at Cellekjærner optræde hos en Mængde lavtstaaende Planter, hvor man tidligere ikke havde kunnet iagttage dem. I 1879 opdagede denne Forsker ogsaa hos Sacch. cerevisiæ (Ølgjær) Legemer, som han opfatter saaledes[1]). Han meddeler, at der i hver Celle findes een kugleformet Cellekjærne, og at den er indlejret i Plasmaet omtrent i Cellens Midte. Ogsaa hos Mycoderma vini fandt han den under lignende Omstændigheder.

Ved at anvende den af Schmitz angivne Præparations-Methode (Pikrinsyre-Hæmatoxylintinktion) iagttog jeg lignende Legemer hos de efterfølgende Saccharomyceter: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Burton Overgjær, Sacch. Pastorianus I og Sacch. Pastorianus II. Kun viste det sig, idetmindste i nogle Tilfælde, at de ikke, som Schmitz meddeler, vare kuglerunde men skiveformede; de optraadte ej heller som Regel i Cellens Midte, men ligesaa hyppig i dens ene Ende. Da jeg for nogle Aar siden havde Lejlighed til at tale med Professor Schmitz selv om disse Forhold, og vi sammenlignede vore Præparater, kom vi til den Slutning, at mine blaat farvede Legemer vare de samme som de af ham opdagede. I en af sine Afhandlinger gjør han selv opmærksom paa, at Cellekjærnen hos samme Celle kan optæde med forskjellig Form under de forskjellige Udviklingsstadier; i yngre Celler er den ofte kugleformet, medens den i ældre tidt bliver skivedannet med afrundet eller uregelmæssig Omkreds. Skjøndt der paa dette Sted ikke er

---

[1]) Schmitz, Resultate der Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten. (Separat-Abdruck aus den Sitzungsberichten der niederrhein. Gesellsch. für Natur- und Heilkunde zu Bonn. 1879, p. 18).

Tale om Gjærceller, antager jeg dog, at Differensen mellem Schmitz's og mine foran berørte Iagttagelser heri finder sin Forklaring. Cellekjærnen bliver ved den nævnte Behandling blaatfarvet; Cellernes Membran farves derimod ikke, ej heller de under visse Omstændigheder tilstedeværende Fedtlegemer. Senere iagttog jeg, at man ved at behandle Gjærcellerne med Osmiumsyre og ved derefter at anbringe dem i fortyndet Glycerin paa en lettere Maade erholdt ligesaa gode Præparater som de foregaaende.

Det har hidtil ikke været muligt i disse Legemer at iagttage de for karakteristiske Cellekjærner ejendommelige Bygningsforhold, ikke heller har man med Bestemthed kunnet paavise, hvilken Rolle de spille ved Gjærcellernes Knopskydning og ved deres endogene Sporedannelse. Det er altsaa kun Farvningsforholdene, hvortil Schmitz støtter sig; han har imidlertid paa dette Omraade en saa stor Indsigt og Erfaring, at det næppe kan tænkes, at han skulde have taget fejl; tilmed er det saavel i Følge almindelige biologiske Betragtninger som navnlig ved flere i den nyere Tid udførte kemiske Undersøgelser gjort i høj Grad sandsynligt, at Cellekjærner maa findes hos Saccharomyceterne. Rigtigheden af Schmitz's Iagttagelse er ogsaa bleven bekræftet af Strasburger.

Senere har Zalewski i det polske Sprog offentliggjort en Afhandling[1]), hvori han meddeler, hvorledes man med Lethed kan paavise Cellekjærnen i Gjærcellerne og i disses Sporer, nemlig ved at man, efter i Forvejen at have behandlet Cellerne med Vand nogle Timer, derpaa farver dem med en Hæmatoxylin- og Alunopløsning. Han meddeler, at Sporerne udvikles ved fri Celledannelse, og beskriver, hvorledes Cellekjærnen under denne Proces deler sig. Om han har havt de samme Legemer for sig som Schmitz ses ikke; dennes Undersøgelser synes i hvert Fald at have været ham ubekendte. Ogsaa hos Mycoderma vini mener Zalewski at have gjort ovenstaaende Iagttagelse. (Om denne Art se mine Bemærkninger p. 169).

Omtrent paa samme Tid udtaler Krasser derimod den Anskuelse, at der ingen Cellekjærne findes i Gjærcellerne[2]). Ved at anvende den af Schmitz angivne Methode, kom han bestandig til

---

[1]) Zalewski, Ueber Sporenbildung in Hefezellen. (Verhandl. und Berichte der Krakauer Akademie der Wissenschaften. Mathemat.-naturwissenschaftl. Section. I, B. XII, 1885. Mit einer Tafel, Ref. Botan. Centralbl., B, XXV, p. 1).

[2]) Krasser, Ueber das angebliche Vorkommens eines Zellkerns in den Hefezellen. (Oesterreichische Botan. Zeitschrift. 1885. Nr. 11, p. 373).

et negativt Resultat. At Schmitz's mikroskopiske Iagttagelse er rigtig, have vi ovenfor hørt; Krasser maa altsaa have været uheldig med sine Forsøg.

Under mine Experimenter havde jeg ligeledes flere Gange Lejlighed til at iagttage Cellekjærnen i Hindernes Celler hos de tre Arter, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II og Sacch. ellipsoideus I, og uden at foretage nogensomhelst Farvning, kun ved at anbringe de paagjældende Celler i et almindeligt mikroskopisk Præparat i lidt Vand eller i Hantsche's Glycerinblanding. De fandtes i de foran omtalte gamle Kulturer i de Pasteurske Kolber, som bleve anstillede ved almindelig Stuevarme, og ligeledes i Kulturer, hvortil Kogeflasker anvendtes, ved Varmegrader fra 14—6° C. Om deres Optræden i Hinderne er indskrænket til de angivne Forhold og Species kan jeg ikke afgjøre, da jeg ikke har anstillet særlige Undersøgelser med dette Spørgsmaal for Øje.

I det Foregaaende ere Saccharomyceternes Hindeformer blevne studerede fra forskjellige Sider; der staar endnu tilbage at omtale den Slimudvikling, som findes mellem Cellerne.

Det er enhver praktisk Brygger bekjendt, at Gjærcellerne i det gjærende Øl under visse endnu ikke kjendte Betingelser kunne forene sig til uregelmæssige Klumper, der med forholdsvis Lethed synke til Bunds, saa at den ovenstaaende Vædske bliver »blank«. Der sættes megen Pris paa, at dette sker. Man har skjænket Fænomenet en stor Opmærksomhed, og det omtales hyppigt i Skrifter om Gjær, saavel i de rent videnskabelige som i de tekniske, men noget nøjere Kjendskab dertil har man som sagt endnu ikke opnaaet. Der er vel ved kemisk Behandling af almindelig Ølgjær blevet fremstillet et Kulhydrat, hørende til Planteslimene, og hvorom det formodes, at det stammer fra Cellens Membran, men at afgjøre dette væsentlige Spørgsmaal har hidtil vist sig at være umuligt. Med Mikroskopet blev der ligeledes længe forgjæves søgt efter gelatinøse Dannelser hos Gjærcellerne. Først i 1884 lykkedes det mig at opdage saadanne. (Botan. Centralblatt, B. XXI, Nr. 6). Jeg har senere fortsat disse Undersøgelser og skal her i Korthed meddele de vigtigste af mine Resultater. Under visse Betingelser kan der hos Saccharomyceterne og flere andre Arters Gjærceller; som mangle endogen Sporedannelse, optræde Dannelser, der vise sig som et gelatinøst Netværk, bestaaende af Strænge eller Plader. I dettes Masker og Rum finder man da Cellerne

indlejrede. De oprindelig mellem disse tilstedeværende Granulationer kunne blive optagne i Netværkets Substans, hvorved denne da ogsaa kan blive farvet deraf. Som det er Tilfældet med de fleste galatinøse Membraner, bliver den ej heller farvet blaa af Jod. En let Maade, at erholde denne Dannelse paa, bestaar deri, at man anbringer en Klump tyk Gjær, som den almindelig findes i Bryggerierne, i et Glas, bedækker dette og lader det Hele staa en kort Tid. Den træder frem, medens Gjæren endnu er temmelig fugtig; derimod udebliver den, hvis Udtørringen foregaar hurtigt. Almindelig iagttages den i Askosporekulturer paa Gibsblokke og paa Gelatine. Ifølge mundtlig Meddelelse fra Hr. Alfred Jørgensen var den ligeledes hyppig tilstede i de talrige Filtrerpapirs-Præparater af Gjær, der i Løbet af det sidste Aar fra forskjellige Steder bleve indsendte til hans Laboratorium[1]). Det er ejheller i den store Praxis noget sjældent Fænomen.

Denne Netværkdannelse iagttog jeg temmelig hyppig hos Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II saavel i Hinderne som navnlig i Gjærringdannelsen og saavel ved de høje som ved de lave Temperaturer. At den ogsaa ved fortsat Eftersøgen under de samme Omstændigheder vil findes hos Sacch. Pastorianus III, antager jeg; ved Forsøg med denne Arts Bundgjær fandt jeg den i hvert Fald flere Gange.

I Experimenter med almindelig Paasætningsgjær fra Gjæringskjælderen viste det sig som sædvanlig, at man ikke ved mikroskopisk Undersøgelse af Cellerne i denne Tilstand kunde opdage noget Spor af det ofte omtalte Netværk eller overhovedet af gelatinøse Dannelser. Ved derpaa at foretage Farvninger efter flere af de i Bakteriologien almindelig anvendte Methoder traadte det meget smukt og tydeligt frem. Den mikroskopiske Præparation hærdner den mellem Cellerne værende Slimmasse, saa at den nu antager en bestemt Form. Medens Cellerne selv blive stærkt farvede, modtager Netværket enten slet ingen eller kun en svag Farvetone. Foretages en vidtgaaende Udvaskning, kan man erholde en Gjærmasse, der, naar den behandles efter de ovenfor berørte Farvningsmethoder, ikke længere viser os Netværket. Fjerner man imidlertid Vandet fra de saaledes mishandlede Celler og lader dem staa en Tidlang, kan Slimmassen gjenfrembringes, og ved

---

[1]) Om denne bekvemme Maade at præparere Gjær til Forsendelse og langvarig Opbevaring findes Oplysninger i min foran citerede Afhandling om Askosporedannelsen i Afsnittet Methoder, p. 63.



passende Præparation træder Netværket da atter frem. Dette gjælder ogsaa om de nye Generationer, man erholder ved at udsaa de gamle, udvaskede Celler i Urt.

Som man maatte vente, er denne gelatinøse Dannelse afhængig af Cellernes Ernæringsforhold saaledes, at man ved at variere disse kan fremme eller hæmme den og indvirke paa dens kemiske Sammensætning.

Ovenstaaende Spørgsmaal ville blive udførligere behandlede i en særskilt Afhandling, ledsaget af de fornødne Afbildninger, og heri vil der da ogsaa blive givet Oplysning om den gelatinøse Dannelses Forhold til, hvad man hos Bakterierne kalder Zooglöa.

MINE FORGÆNGERES BIDRAG TIL KUNDSKABEN OM HINDEDANNELSEN HOS SACCHAROMYCETERNE.

De første Antydninger om Vegetationer af denne Art findes i det for sin Tid fortjenstfulde Værk af Reess, »Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze«, 1870. Jeg tænker navnlig paa det Sted p. 14, hvor han omtaler Kulturer af Overgjær paa Gulerodskiver i fugtigt Rum. Under disse Dyrkningsforhold formere Cellerne sig og fremkalde en svag Alkoholgjæring, og navnlig paa Overfladen af det Gjærlag, der saaledes efterhaanden dannes, udvikler der sig i umiddelbar Berøring med Luften en Vegetation af langstrakte, undertiden barokke Celler. (Se Reess's Tavle I, Fig. 14).

Medens hos Reess den morfologiske Beskrivelse er Hovedsagen, træder hos Pasteur Experimentet bestandig i Forgrunden; det er overhovedet, som bekjendt, fra denne store Naturforsker, at hele det moderne experimentelle Studium af Mikroorganismerne har sit Udspring. Ogsaa til det i nærværende Afhandling behandlede Hovedspørgsmaal har Pasteur givet Bidrag.

I det af mig saa ofte citerede Værk, »Études sur la bière«, 1876, gives p. 201 en Meddelelse om »en ny Slags Alkoholgjærsvampe, levûres aérobies ou levûres-moisissures«. Pasteur bemærkede, at der paa Overfladen af Vædsker, hvori en Alkoholgjæring havde fundet Sted, og som derefter havde staaet en lang Tid, dannedes en mycodermaagtig Hinde eller langs Overfladens Rand et Gjærbælte. Det er denne Gjærvegetation, som han betegner med de ovenfor nævnte Navne, og han meddeler, at han især iagttog den i Øl og lignende Næringsvædsker. Den kraftigste og hurtigste Udvikling fandtes der, hvor der var rigeligst Adgang

af Luften. Om disse levùres aérobies fremhæver han p. 205, at de, skjøndt de ligne deres tilsvarende Udsæd, dog ikke ere identiske dermed. »I de fleste af mine Experimenter,« siger Pasteur, »har jeg set den nye levùre aérobie optræde som en Overgjærform og give et Øl, der havde noget mere parfumeagtigt ved sig end det Øl, som frembragtes af den Undergjær, hvorfra den paagjældende levùre aérobie oprindelig stammede. Disse Egenskaber hos levùre aérobie ere ikke indskrænkede til den første Kultur, de ere nedarvelige.« P. 213 opkaster Pasteur det Spørgsmaal, om ikke den i Industrien benyttede Overgjær er levùre aérobie - Formen af Undergjæren, og tilføjer: »Jeg er tilbøjelig til at tro, at den Gjær, som jeg har kaldet ny Overgjær, kunde være levùre aérobie af Undergjæren fra Bryggerierne i Elsas eller i Tydskland.« Paa et tidligere Punkt i sin Bog, p. 189, er han imidlertid ad experimentel Vej kommen til et andet Resultat, nemlig at Over- og Undergjær ere to differente Arter, der ikke lade sig overføre til hinanden; men den berørte Ide om, at det Modsatte dog alligevel turde være Tilfældet, har øjensynlig under Redaktionen af Værket mere og mere grebet ham. I en hel anden Forbindelse (p. 333, Anmærkningen) vender han saaledes atter tilbage dertil. Her gives nemlig de praktiske Bryggere en Recept paa, hvorledes de skulle behandle deres Undergjær, hvis de ville sikkre sig imod, at den ikke gjennem Udviklingen af levùre aérobie en skjøn Dag skal blive omdannet til Overgjær.

Af det Foregaaende maa vi nærmest slutte, at det er Pasteur's Mening, at den »nye Slags Gjær« er en Udviklingsform af den almindelige Bundgjær. I Anmærkningen p. 205 udtaler han imidlertid selv Tvivl i den Henseende og henviser til den Mulighed, at levùre aérobie-Formerne kunne tænkes at have været tilstede som skjulte Indblandinger i de Gjærmasser, hvormed Forsøgene bleve anstillede. Han opstiller Grunde for og imod denne Opfattelse uden dog at kunne komme til en Afgjørelse af dette saa vigtige Punkt.

Det meddeles, at levùre aérobie - Cellerne væsentlig have samme Form, som Cellerne af den Udsæd, hvormed Forsøgene begyndte, og som Cellerne i den tilsvarende Bundgjær; levùre aérobie af Overgjær skal saaledes under alle Omstændigheder have kuglerunde Celler o. s. v. Derimod angiver han, at der er Forskjel paa Udseendet af Hinde- og Gjærringdannelserne hos de forskjellige Arter: Hos Sacch. Pastorianus siges levùre aérobie at danne en Ring paa Vædskens Overflade i Nærheden af Kolbens Væg, en Ringdannelse, som ved den mindste Rystelse af Vædsken

skilles ad. Levûre aérobie af Overgjær angives at optræde som smaa isolerede Vorter paa Overfladen af den gjærede Vædske. Undergjærens levûre aérobie siges at danne et Lag, som ikke holder sammen, men som ved den mindste Rystelse synker til Bunds lig en Regn af smaa uregelmæssige Brokker uden dog at fordele sig. Den caséeuse Gjærs levûre aérobie skal være karakteristisk derved, at den danner en sammenhængende tyk, fedtet Hinde, der imidlertid ligesom den foregaaende Arts ved Rysten skilles ad i Brudstykker.

Hermed have vi stiftet Bekjendtskab med det Væsentligste af hvad Pasteur meddeler om levûre aérobie. Sammenlignes dermed mine foregaaende Studier over Saccharomyceternes Hindedannelse, faar man strax det Indtryk, at det vistnok maa være de samme Fænomener, hvorom Talen er; ved nøjere Betragtning træder dog den store Uoverensstemmelse frem, og der opstaar Tvivl derom.

Det første Punkt, vi skulle undersøge, er Pasteur's Paastand om, at Undergjær gjennem Udviklingen af levûre aérobie strax omdannes til Overgjær, og at de herved erhvervede nye Egenskaber ikke ere foreløbige, men nedarvelige. Med dette Spørgsmaal for Øje anstillede jeg at stort Antal Forsøg saavel med mine sex ofte nævnte Arter som med en Undergjærrace, udskilt fra gjærtykt Øl[1]), med Carlsberg's Undergjær Nr. 1 og endelig med en Gjærart, for hvilken jeg strax vil fastslaa Navnet Sacch. exiguus, og om hvilken nærmere Oplysninger vil blive meddelte i en særskilt Afhandling. Der blev experimenteret saavel med yngre som med ældre Hindedannelser, alle udviklede i Urt-Kulturer ved Værelsets Temperatur, altsaa under Forhold, der, saa vidt jeg kan skjønne, vare de samme som de, hvorunder Pasteur opererede. De benyttede Kolber vare dels Pasteur's dels Chamberland's Model. Hver Arts Hindedannelse blev for sig benyttet til Infektion af ny steriliseret Urt; der blev altsaa her ligesom tidligere bestandig arbejdet med Renkulturer. Mine Forsøg kunne henføres til to Grupper. I den ene var Udsæden ikke blot i de første, men tillige i alle de følgende Kolber Hindevegetationer. Det vil sige, den med en Hindevegetation inficerede Kolbe, a, blev staaende, indtil den selv havde udviklet Hinde; med denne Hinde inficeredes Kolben, b, der derpaa atter blev staaende, indtil i den en Hinde var dannet, hvorpaa Infektion paa lignende Maade foretoges herfra

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B., 2 Hefte, 1883, p. 95 o. flg.).



til c, o. s. v. Infektionen skyldtes altsaa bestandig de nydannede Hinder, der overførtes fra Kolbe til Kolbe gjennem et stort Antal Led. I den anden Gruppe derimod stammede kun Infektionen i hver Arts første Kolbe fra en Hindedannelse. Med den herved dannede Bundgjær blev, forinden ny Hinde havde udviklet sig, den næste Kolbe inficeret, og med dennes Bundgjær atter den tredie o. s. v. Infektionen i hver Rækkes Led i denne Gruppe, med Undtagelse af det første, stammede følgelig fra en Bundgjærmasse. Begge Grupper af Dyrkningsforsøgene bleve udførte saavel ved almindelig Stuevarme som ved c. 26 ° C., kort sagt under Forhold, som efter Alt, hvad vi vide, maa betegnes som særligt gunstige til at fremkalde Overgjæringsfænomener. Disse traadte imidlertid kun frem i de Tilfælde, hvor den oprindelige Udsæd var en Overgjærform. *Hindedannelserne af alle Undergjærformerne, sex Arter, udviklede bestandig kun Undergjær.*

Ifald Pasteur's levûre aérobie er det Samme som min Hindedannelse, og der ikke derunder skjules et for mig ukjendt Fænomen, maa jeg antage, at den Undergjær, hvormed han anstillede sine Forsøg, har været blandet med Overgjær. Da det udtrykkelig fremhæves, at de iagttagne Omdannelser ikke vare af foreløbig Natur, kan det ikke antages, at han har ladet sig skuffe af det Forhold hos Saccharomyceterne, at de efter en vis Behandling kunne vise Overgjæringsfænomener gjennem nogle faa Gjæringer, hvorefter de atter vende tilbage til det Normale. Det er ikke blot i Laboratoriet, at saadanne Iagttagelser kunne gjøres, men ogsaa i Bryggeriet. I Sommeren 1884 havde saaledes Hr. Bryggeridirektør Kühle opbevaret nogle Portioner af Carlsberg's rene Undergjær, Nr. 2, dels i Øl, dels i Urt og dels som udvasket Pressegjær 3—4 Uger i en af Bryggeriets Isbeholdere. Da denne Gjær derefter blev sat til Urt i Gjæringskjælderen, gav den her strax en hidsig Gjæring med tydelige Overgjæringsfænomener. For at prøve, om den opløftede Gjær virkelig skulde bestaa af en Overgjærform, afskummede han den for sig alene og satte den til ny Urt. Det viste sig da, at den i alle Retninger forholdt sig som normal Undergjær. Den fysiologiske Omdannelse, der i Forsøgets Begyndelse iagttoges, var følgelig ikke konstant, men forsvandt hurtig. Omvendt kan man indvirke saaledes paa typiske Overgjærformer, at de gjennem flere Generationer vise sig som Undergjær, men ogsaa i disse Tilfælde er der kun Tale om en foreløbig Omdannelse. Mine Undersøgelser gaa altsaa, hvordan jeg end søger at tage Sagen, bestemt imod Pasteur's.

Ifølge Pasteur have levûre aëerobie-Cellerne ingen særlig Evne til Variation, og det siges om dem, at de i Formen stemme overens med Cellerne af den tilsvarende Udsæd og med den deraf dannede Bundgjær. At dette, hvad mine Hindedannelser angaar, kun har en meget betinget Gyldighed, ses tydeligt ved blot at kaste et Blik paa Tavlerne til min Afhandling. Den Uoverensstemmelse, der paa dette Punkt er mellem Pasteur's og mine Resultater, kan maaske delvis finde sin Forklaring deri, at Pasteur's Experimenter kun bleve anstillede ved almindelig Stuevarme, og at han muligvis indskrænkede sine mikroskopiske Undersøgelser til de første Udviklingsstadier.

Efter Pasteur fremvise Gjærarternes levûre aérobie et forskjelligt Ydre, saa at man alene derved skal kunne skjelne den ene fra den anden. Dette var, som tidligere meddelt, ikke Tilfældet med de af mig undersøgte Hindedannelser. Selv om vi ligesom Pasteur kun anstille Forsøgene ved almindelig Stuevarme, finde vi, at Differensen mellem de sex Arter i den nævnte Retning kun viser sig deri, at der hos nogle indtræder en kraftigere og hurtigere Udvikling end hos andre.

Har Pasteur i sin levûre aérobie havt samme Fænomen for sig, som jeg i mine Hindedannelser, saa er der altsaa væsentlige Differenser i vore Resultater. Vi indtage overhovedet i vore Studier af Alkoholgjærsvampene forskjellige Standpunkter; Grunden hertil er tildels den, at Pasteur er gaaet til Opgaven fornemmelig som Kemiker, jeg derimod som Botaniker.

Hvis Pastenr's levûre aérobie er det samme som mine Hindedannelser, saa er Navnet levûre aérobie uheldig valgt. P. 115 i det foran nævnte Værk giver han nemlig selv den Definition deraf, at det skal betegne Organismer, som ikke kunne leve uden Luft; men om mine Hinders Celler vide vi jo, at de, naar de nedsænkes i gjæringsdygtige Vædsker, her kunne udføre deres Gjæringsvirksomhed uden at have Adgang til fri Ilt. Det er vel sandt, at en rigelig Lufttilførsel begunstiger Udviklingen af Hinderne, men dette gjælder ogsaa for Knopskydningen og ligeledes i en høj Grad for Askosporedannelsen. Hvad sidstnævnte Funktion angaar, finder jeg i mine endnu ikke offentliggjorte Optegnelser følgende i den Retning oplysende Iagttagelser: Sacch. ellipsoideus II og mine tre Arter af Gruppen Pastorianus bleve hver for sig tilligemed nogle Draaber af den gjærende Urt, hvori de vare dyrkede, anbragte paa en større Række Objektglas. Halvdelen af disse Kulturer bleve derpaa strax stillede ind under en fugtig Glasklokke; Draaberne paa de øvrige Objektglas bleve derimod først dækkede

hver med sit Dækglas, hvorpaa ogsaa disse Kulturer bleve stillede ind i et lignende fugtigt Rum. Arbejdet blev udført saaledes, at der ikke indtraadte en Infektion udenfra. Efter nogle faa Dages Forløb viste det sig da, at mange af Cellerne i enhver af de ikke bedækkede Draaber havde dannet endogene Sporer, men derimod ingen af Cellerne i de bedækkede, og efter 17 Døgn fandtes endnu ikke en eneste Celle med Askosporer i disse fra Luften afspærrede Kulturer. — Det Væsentligste for Hindedannelsen er forøvrigt ogsaa den frie, rolige Overflade og ikke Lufttilførselen. Lade vi f. Ex. Luft med tilstrækkelig Kraft uafbrudt boble igjennem vore med Gjær inficerede Næringsvædsker, vil der slet ikke indtræde nogen Hindeudvikling. Blot ved af og til at ryste Vædsken kunne vi bevirke, at denne Dannelse ikke finder Sted.

Det andet Navn, levûre-moisissure, er ligeledes næppe heldig valgt. For det Første er det endnu bestandig meget tvivlsomt, om Saccharomyceterne, hvorom Talen idetmindste for mit Vedkommende bestandig er, ere Udviklingstrin af Skimmelformer eller ej; det er nemlig hidtil gaaet Forskningen hermed som med generatio spontanea, at alle de Beviser, der fremførtes til Støtte for denne Opfattelse, ikke have kunnet udholde en exakt Prøve. Dernæst er det et aabent Spørgsmaal, om Gjærceller, naar de i Hindevegetationer leve paa Vædskens Overflade, udføre lignende kemiske Omsætninger, som ægte Skimmelvegetationer; de Undersøgelser, jeg i den Retning har paabegyndt, ere dog ikke tilstrækkelig fremskredne til, at jeg i Øjeblikket kan udtale mig nærmere derom. Af andre Grunde, der tale imod at indføre nye Navne for vort Fænomen, kan ogsaa fremhæves den, der allerede blev dragen frem i Indledningskapitlet til nærværende Afhandling, nemlig at Hindedannelsen hos Saccharomyceterne ikke er en for disse særegen Udviklingsform, men derimod et i Mikroorganismernes Verden almindeligt Fænomen.

Er Pasteur's levûre aérobie imidlertid et helt andet Fænomen end det af mig i nærværende Afhandling behandlede, og betegnes dermed ejendommelige, selvstændige Gjærarter, som idetmindste en af Mesterens Diciple har opfattet det, saa er naturligvis ovenstaaende Undersøgelse af Navnenes Værdi overflødig. Det er værd at lægge Mærke til, at De Bary i sit berømte Værk, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, ligesom med Flid har undgaaet at benytte dem.

Aarsagen til, at vi ikke af Pasteur's Bog med Sikkerhed kunne afgjøre, hvad der egentlig er Tale om, er væsentlig den, at det, som det flere Steder, f. Ex. p. 179 og navnlig i den citerede

Anmærkning p. 205, klart og tydeligt siges, ikke var muligt at bestemme, om der i hver af Kolberne fandtes eet eller flere Species. En anden Grund til Usikkerheden er den, at det hverken i Afsnittet om levûre aérobie eller overhovedet paa noget Punkt afgjøres, om der er Tale om Saccharomyceter eller kun om saccharomyceslignende Celler. Ordene Saccharomyces og levûres betegne nemlig hos Pasteur Alkoholgjærsvampe i Almindelighed med udpræget Gjæringsevne og med Gjærcellers sædvanlige Knopskydning, altsaa Svampe, der kunne henhøre til meget forskjellige Afdelinger i vort nuværende System. De ere efter hans Opfattelse (p. 164, 165, 177) Udviklingsformer af visse, endnu dog ikke nærmere kjendte dematiumagtige Skimmelsvampe. Om det hermed i nøje Forbindelse staaende Spørgsmaal om Species har Pasteur ikke udtalt nogen bestemt Anskuelse. Paa nogle Steder, f. Ex. p. 147, synes hans Mening at være den, at de nævnte Organismer optræde med konstante Species-Mærker, paa andre, f. Ex. p. 193, maa den opmærksomme Læser derimod faa det Indtryk, at de have en ubegrændset Evne til Variation, og at Species ikke findes iblandt dem. I det af os navnlig undersøgte Afsnit om levûre aérobie komme begge disse modstridende Meninger til Orde.

For at forstaa det berømte Værk rigtigt, maa vi imidlertid bestandig fastholde, at dets Opgave paa dette Omraade kun var at give en Række foreløbige Undersøgelser. At gjennemføre disse var tilmed næppe muligt paa det Standpunkt, hvorpaa Videnskaben den Gang befandt sig, og siden har, som Alle vide, den store Forskers Kraft været indviet til helt andre Opgaver, — Opgaver, ved hvis Løsning Pasteur har erobret en ny Verden for Lægekunsten og Biologien.

TILBAGEBLIK.

I det første Afsnit af denne Afhandling blev det vist, at Hindedannelsen er et meget almindeligt Fænomen i Mikroorganismernes Verden, og at den optræder saavel hos Bakterierne som hos de egentlige Svampe og hos Former henhørende til forskjellige Afdelinger i Systemet (p. 168—173).

Ogsaa hos Saccharomyceterne iagttoge vi denne Dannelse, og vi lærte navnlig, at Vegetationerne i de gamle Kulturers Hinder under de angivne Dyrkningsforhold udvikle mere langstrakte Celler og i Reglen tillige mere sammensatte Kolonier, end der fandtes i

den tilsvarende Udsæd; Systemets Sacch. cerevisiæ og Sacch. ellipsoideus bleve herved omdannede til Sacch. Pastorianus; en Udvikling af traadformede og bakterielignende Celler traadte ogsaa frem (p. 173—176 og Figurerne 3 paa Tavlerne III—VIII). Disse Iagttagelser bleve Udgangspunktet for planmæssige Experimenter med de i mine tidligere Afhandlinger omhandlede sex Arter.

Vi fandt, at en af Betingelserne for, at en kraftig Udvikling i den nævnte Retning skal indtræde, er, at vedkommende Gjærart har rigelig Adgang til atmosfærisk Luft. Forsøgene bleve derfor anstillede i halvfyldte Kogeflasker, der vare overbundne med steriliseret Filtrerpapir, og der blev endvidere benyttet en gunstig Næringsvædske, nemlig Ølurt (p. 176—177).

Ved at underkaste Udsædens Celler fra ensartede Renkulturer en mikroskopisk Undersøgelse fandt vi, at de kunne henføres til tre Afdelinger, hvoraf den ene omfatter Sacch. cerevisiæ I, den anden de tre Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus, og den tredie de to Arter af Gruppen Sacch. ellipsoideus (p. 177—178 og Tavle I—II).

Tabellerne p. 179—181 gave os en Oversigt over Hindeududviklingen ved forskjellige Temperaturer. Vi lærte navnlig heraf, at de første Udviklingsstadier ved 13—15° C., der ere aftegnede i Figurerne 2, Tavle IV—VIII, og i Fig. 1 paa Tavle III, frembyde iøjnefaldende Differenser mellem flere af Arterne. Særlig vigtig for os er, at de to Arter, Sacch. Pastorianus II og Sacch. Pastorianus III, som begge ere Overgjærformer, og hvis Udsæds Celler ikke med Sikkerhed kunne skjelnes fra hverandre, her optræde med aldeles forskjellige Vegetationer; det Samme gjælder ligeledes om de to i Udsæden ensartede Arter, Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II. Interessant er det endvidere at se, hvorledes den ved sine ovale Celler i Udsæden typiske Sacch. ellipsoideus I her har dannet mycelielignende Kolonier og er bleven til en af Systemets Sacch. Pastorianus, medens derimod det Omvendte har fundet Sted med Sacch. Pastorianus II. Ligeledes lærte vi, at Udviklingen foregaar med forskjellig Hurtighed og Kraft hos de forskjellige Arter, og at deres Temperaturgrændser i den Retning ogsaa ere forskjellige (p, 179—185).

Vi erfarede, at Knopskydningen og Gjæringen finde Sted udover en Temperatur, ved hvilken under lignende Omstændigheder ingen Udvikling af Hinde kan indtræde, og at de Arter, som have de højeste Temperaturmaxima for de to førstnævnte Funktioner ogsaa have dem for Hindedannelsen (p. 186).

Ved at undersøge Bundgjæren i de beskrevne Dyrkningsforsøg saa vi, at den i nogle Tilfælde var dejgagtig, i andre derimod hindeagtig foldet eller osteagtig, og vi lærte, at samme Art ved en vis Behandling kan bringes til at udvikle enhver af disse Bundgjærformer. Ogsaa Formforskjelligheder af systematisk Værdi traadte her frem hos Cellerne, og vi erfarede paany, at samme Art under forskjellige ydre Indvirkninger kan optræde paa helt forskjellig Maade, med helt forskjelligt Præg; men omvendt viste det sig tillige, at der er Grændser for denne Indvirkning, og at vore sex Arter reagere forskjellig (p. 186—188).

Et af de praktiske Resultater af mine Undersøgelser bestaar deri, at der herigjennem har udviklet sig en Methode til Analyse af Bryggerigjær. Ogsaa ovenstaaende nye Undersøgelser yde Bidrag i den Retning. Disse saavelsom mine øvrige for den store Praxis gjennemførte Arbejder staa eller falde med den Forudsætning, at Saccharomyceterne optræde som Species, Varietet eller Race, og at der, kort sagt, er Konstans i de af mig udfundne Karakterer. Det var derfor ogsaa herimod, at Hovedangrebet blev rettet fra mine ærede Modstandere i Berlin (p. 188—192).

Medens den første Del af andet Kapitel fortrinsvis omfatter det gjennem alle mine Studier over Mikroorganismerne gaaende Hovedspørgsmaal om Species og disses Begrændsning, gives derimod i Slutningen en Række forskjellige Oplysninger i andre Retninger: Om den Affarvning, som Hinderne fremkalde i vedkommende Ølvædske (p. 192); Iagttagelser over den Indflydelse, som Næringsvædskens kemiske Sammensætning har paa Udviklingen af Hinderne og paa Formen af disses Celler (p. 193—195); Undersøgelser over Dannelsen af endogene Sporer (p. 195) og af Cellekjærne i Hindens Celler (p. 198), og Undersøgelser over de af mig for et Par Aar siden opdagede gelatinøse Dannelser hos Gjærceller (p. 198—200).

Om mine Forgængeres Bidrag til Kundskaben om Hindeudviklingen hos Saccharomyceterne handles p. 200—207. De første Antydninger om Vegetationer af den Art fandt vi hos Reess. Udførligere Bidrag indeholdes i Pasteur's berømte Værk, Études sur la bière. Ved første Betragtning synes det nemlig, at Pasteur's levûre aérobie eller levûre moisissure maa være det Samme som mine Hindedannelser; et nøjere Studium viser os dog den store Uoverensstemmelse, og der opstaar Tvivl derom. Medens Pasteur paa nogle Steder synes at have den Opfattelse, at hans nye Gjær er en Udviklingsform af den almindelige Bundgjær, henviser han derimod paa andre til den Mulighed, at levûre aérobie-Formerne

kunne tænkes at have været tilstede som skjulte Indblandinger i de Gjærmasser, hvormed han anstillede sine Forsøg (p. 201); i dette Tilfælde ere de følgelig ejendommelige, selvstændige Gjærarter, og Pasteur har da havt et helt andet Fænomen for sig end det af mig behandlede. Det indgaaende Studium, som Kapitlet om levûre aérobie i den store Forskers Værk blev underkastet, har overhovedet atter vist, at vi i vore Undersøgelser over Alkoholgjærsvampene indtage forskjellige Standpunkter.

FORKLARING OVER TAVLERNE.

Alle Figurerne ere forstørrede 1000 Gange lineært. Paa Tavle I og II er der afbildet unge, kraftige Vegetationer i almindelig Bundgjær fra Kulturer i Ølurt (p. 177). Tavlerne III—VIII fremstille de deraf ved forskjellige Temperaturer og i forskjellig Tid udviklede Hindevegetationer (p. 173—184).

Tavle I.

Fig. 1. Saccharomyces cerevisiæ I p. 177.
- 2. Saccharomyces Pastorianus I. p. 177.
- 3. Saccharomyces Pastorianus II. p. 177.

Tavle II.

Fig. 1. Saccharomyces Pastorianus III. p. 177.
- 2. Saccharomyces ellipsoideus I. p. 178.
- 3. Saccharomyces ellipsoideus II. p. 178.

Tavle III.

Saccharomyces cerevisiæ I. p. 173, 179, 181.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 15—6° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 34—22° -.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.

Tavle IV.

Saccharomyces Pastorianus I. p. 174, 179, 181.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 28—20° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 15—3° -.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.

I Fig. 1 ere nogle af de langstrakte Celler blevne mindre heldigt gjengivne.

Tavle V.

Saccharomyces Pastorianus II. p. 174, 180, 181.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 28—20° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 15—3° -.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.

Tavle VI.

Saccharomyces Pastorianus III. p. 174, 180, 182.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 28—20° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 15—3° -.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.

Tavle VII.

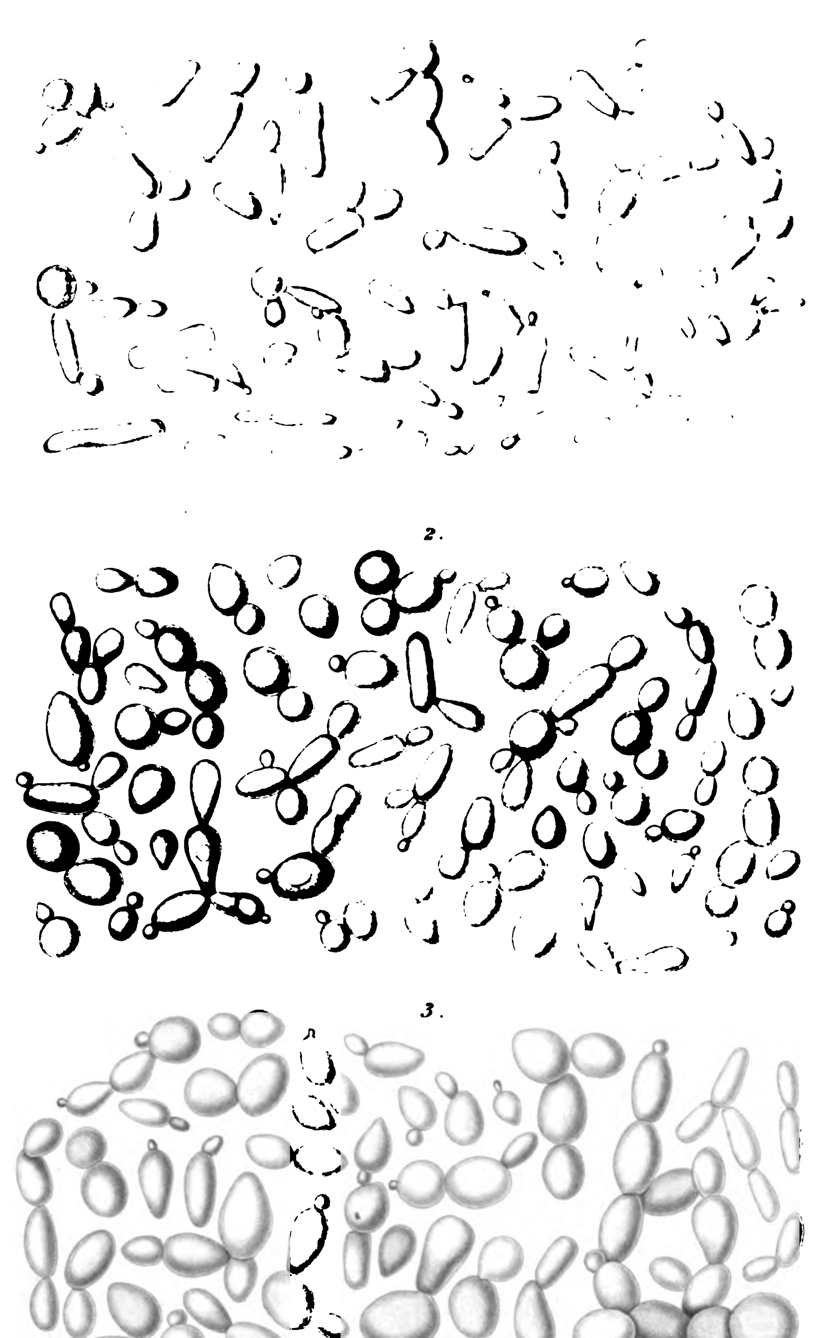
Saccharomyces ellipsoideus I p. 174, 180, 182.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 34—20° og 6—7° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 15—13° C.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.

Tavle VIII.

Saccharomyces ellipsoideus II. p. 175, 180, 182.

Fig. 1. Hindevegetationerne ved 38—20° C.
- 2. Hindevegetationerne ved 28—3° -.
- 3. Hindevegetationerne i gamle Kulturer.



Emil Chr. Hansen ad. nat. del. *Lövendal sc.*

1.

2.

3.

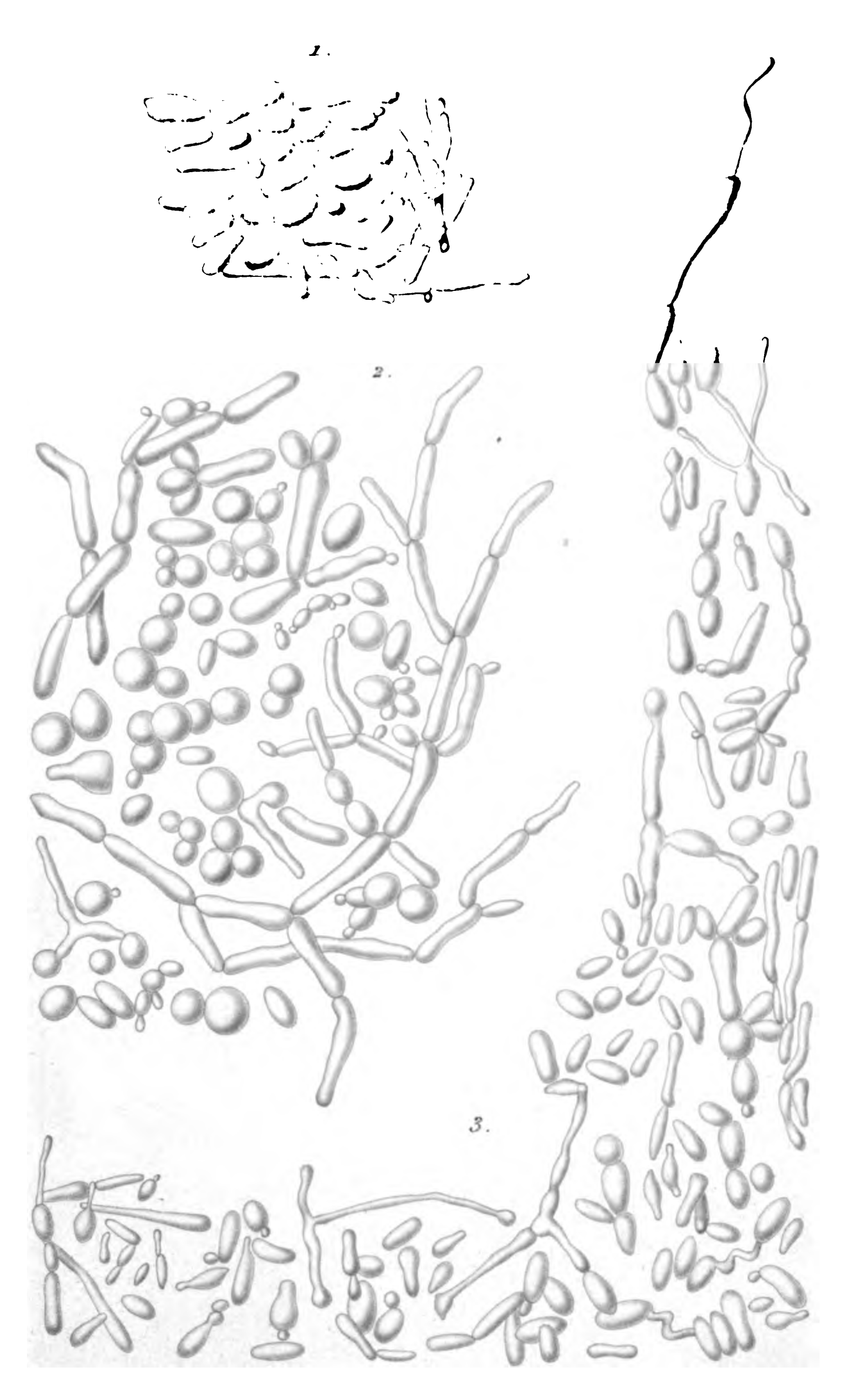
Emil Chr. Hansen ad. nat. del. *Lövendal sc.*





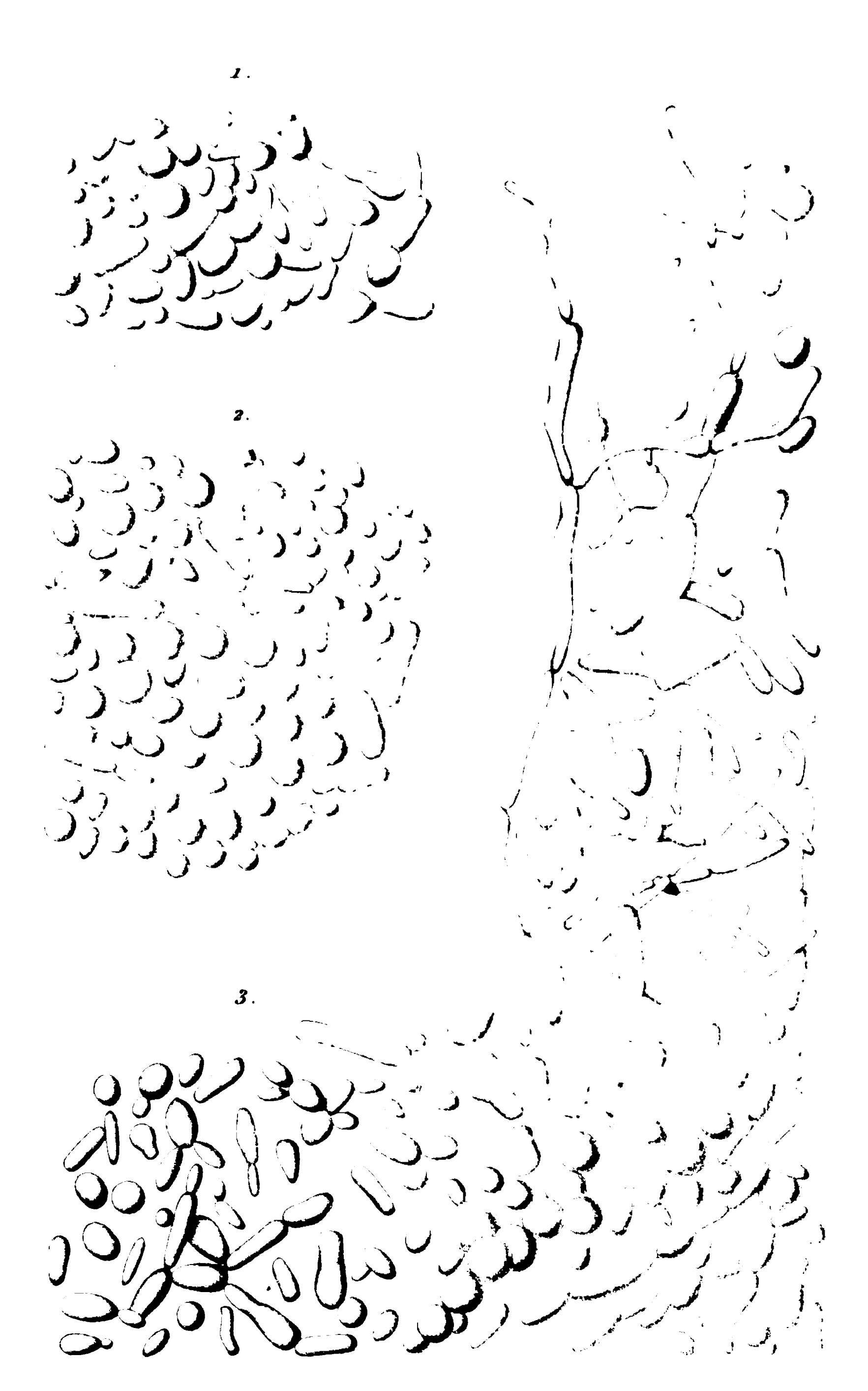
Emil Chr. Hansen ad nat. del.

Lövendal sc.



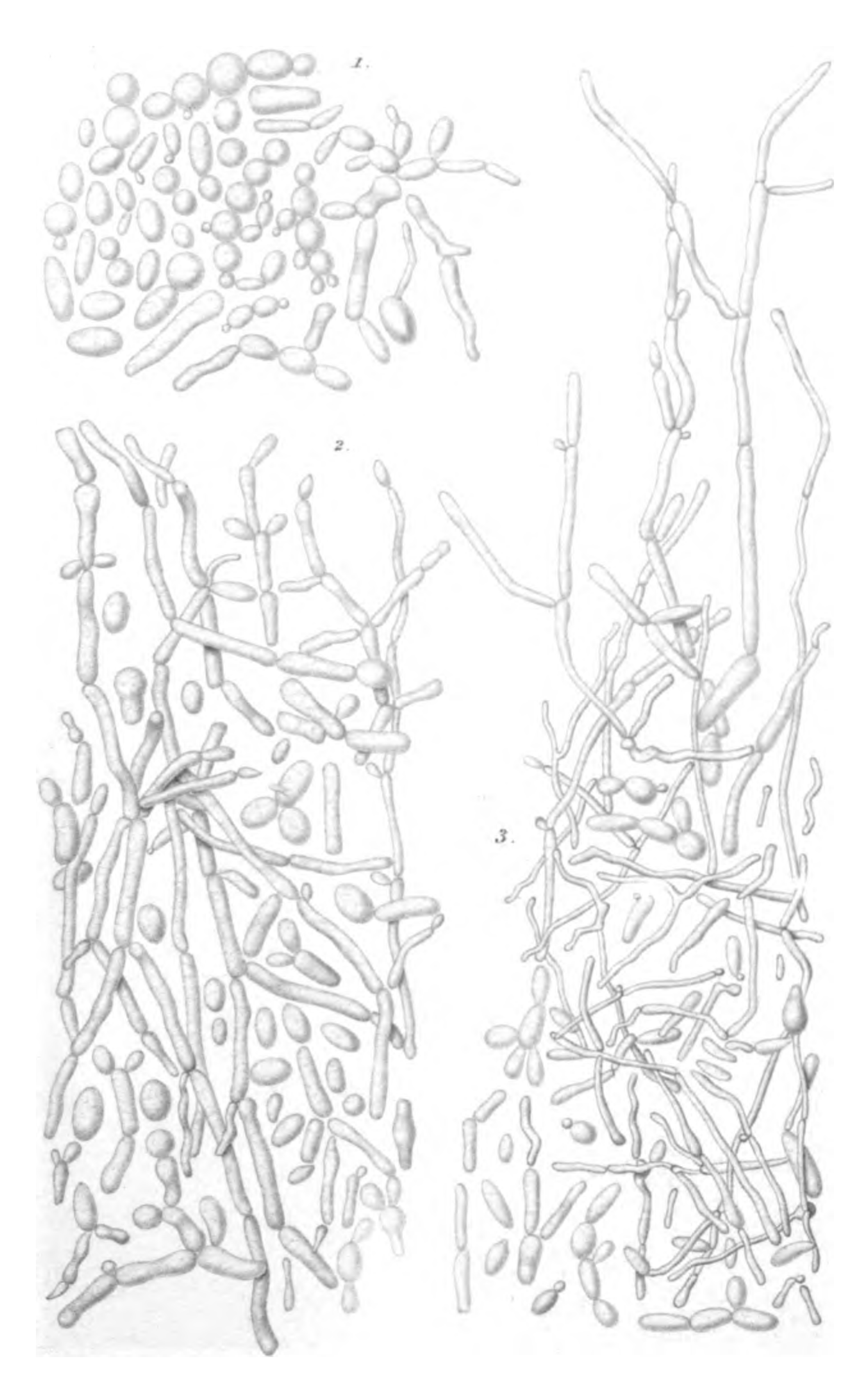
Just Chr. Holm ad nat. del.

Lövendal sc.



Just Chr. Holm ad nat. del.

I. Svendal sc



Emil Chr. Hansen ad nat. del.

Lövendal sc.



Just Chr. Holm ad nat. del.

Lövendal sc.



Emil Chr. Hansen ad nat. del.

Lövendal sc.

Hvor ringe en Infektion af „vild" Gjær kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af S. cerevisiæ?

(2den Meddelelse).

Af

Just Chr. Holm og **S. V. Poulsen.**

Efterat vi i vor forrige Meddelelse om dette Spørgsmaal kun havde behandlet Forholdet ligeoverfor een Kulturart, nemlig den i Bryggeriet »Gamle Carlsberg« og i skandinaviske Bryggerier overhovedet fortrinsvis benyttede Carlsberg Undergjær Nr. 1, laa det nær at underkaste andre Kulturarter den samme Prøve for at se, i hvilken Udstrækning den anvendte Temperatur lod sig benytte.

Dette blev da Gjenstand for den første Del af de nye Undersøgelser, som her offentliggjøres.

I sine Undersøgelser over de paa Gl. Carlsberg anvendte Gjærarter havde Dr. Hansen fundet, at Gjærarten Carlsberg Undergjær Nr. 2 ikke saaledes som Carlsberg Undergjær Nr. 1 kan analyseres ved 25° C., men derimod ved en Temperatur af 15—16° C. Dette Resultat meddelte han blandt andet i de Forelæsninger, som han i de senere Aar har holdt her paa Laboratoriet for fremmede Zymotechnikere, og det er saaledes ogsaa gaaet over i Literaturen, idet det f. Ex. omtales i Jörgensens: »Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie«.

Heri fandt vi det andet Udgangspunkt for vore Undersøgelser.

Endvidere ere under Arbejdet andre mindre Spørgsmaal dukkede op, for hvilke vi ogsaa i denne Meddelelse skulle gjøre Rede.

Til vore nye Forsøg benyttede vi dels Carlsberg Undergjær Nr. 2 dels en Del andre (18) rendyrkede, paa maa og faa ud-

valgte Undergjærarter, som imidlertid alle havde været prøvede i Driften i Bryggerier, dels herhjemme og dels i Udlandet, og befundne at være gode. Det fremhæves her udtrykkelig, at vi saaledes ikke blot sikrede os, at vi bestandig arbejdede med prøvet Kulturgjær, men at vi ogsaa søgte at inddrage et stort Antal Arter i vor Prøve, idet vor Opgave jo netop var, om muligt at finde Tilfælde, hvor Methoden ikke lod sig anvende.

Ved denne Lejlighed bemærkes, at, medens der ved Carlsberg Undergjær Nr. 1 (ikke at forvexle med Hansens Sacch. cerivisiæ I) overalt, baade paa Gl. Carlsberg og i andre Bryggerier, betegnes en eneste aldeles bestemt Gjærart, nemlig den, hvormed Hansen i Slutningen af 1883 indførte Renkulturen i Bryggeridriften, betegnes der ved Carlsberg Undergjær Nr. 2 ikke en, men flere forskjellige Arter, som efterhaanden ere blevne prøvede i det nævnte Bryggeri.

Blandt de andre Kulturarter, hvormed disse Forsøg gjordes, ville vi særlig nævne følgende:

Hofbräuhaus Gjæren og Augustinerbräuhaus Gjæren, der ere fremstillede af Dr. Will i »Wissenschaftliche Station für Brauerei« i München, og som i det sydlige Udlands store Bryggerier, f. Ex. Spaten Bryggeriet i München, spille en lignende betydelig Rolle som Carlsberg Undergjær Nr. 1 i de skandinaviske Bryggerier, endvidere den Gjær, som er fremstillet af Dr. Elion og almindelig anvendes i Heineckens Bryggerier i Amsterdam og Rotterdam. En stor Del af de øvrige Arter skyldes Hr. Laboratorieforstander Jørgensen. Om Hofbräuhaus- og Augustinerbräuhaus Gjæren har Will meddelt Oplysninger i »Zeitschr. für das ges. Brauwesen« 1887, Nr. 16. Med flere af de i vor Afhandling omhandlede Arter bleve kemisk-physiologiske Undersøgelser anstillede af E. Borgmann (Zeitschr. f. analyt. Chemie XXV. Heft IV p. 532) og K. Amthor (Zeitschr. f. physiol. Chemie XII. p. 64). Herved traadte blandt andet dette frem, at Arterne ogsaa i denne Retning viste betydelige Differenser.

Ligesom i vor første Meddelelse bleve Forsøgene anstillede med de 3 Arter: Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II som Indblanding, om hvilke det gjennem Hansens Undersøgelser som bekjendt blev vist, at de foraarsage Sygdomme i Øl; de ere tilmed de eneste Arter, hvorom dette vides[1]).

---

[1]) For nylig har Grønlund (»Zeitschr. für das ges. Brauwesen« 1887 Nr. 21) i et af de Bryggerier, med hvilke han staar i Forbindelse,

Det er af Vigtighed at erindre, at Dyrkningen af Gjæren — baade af Kulturarterne og af de nævnte Sygdoms-Gjærformer — nøjagtig foregaar saaledes, som den er bleven foreskreven af Hansen i hans for alle disse Analyser til Grund liggende Arbejde: Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces (II B. 2 Hefte, 1883 p. 65).

Hvad den første Del af vore Undersøgelser angaar, nemlig Spørgsmaalet om, hvorvidt der imellem de i vore Forsøg inddragne Kulturarter fandtes nogle, som i Lighed med den tidligere undersøgte Carlsberg Undergjær Nr. 1 kunde lade sig analysere ved 25° C., viste det sig, at der af de 19 Former, som nu prøvedes, fandtes 5, som lod sig analysere efter 40 Timer ved denne Temperatur. Disse stillede sig atter forskjelligt med Hensyn til Tiden, paa hvilken Askosporerne fremkom, hvilket tydeligt nok viste, at det var forskjellige Arter, med hvilke der opereredes; en dannede saaledes sine Askosporer efter 3 Døgn, medens andre først udviklede disse efter 5 Døgn (ved 25—26½° C.). Her skal bemærkes, at Carlsberg Undergjær Nr. 1, der danner Typen for disse Arter med Hensyn til Tiden, paa hvilken Askosporerne udvikles ved 25° C., efter 4 Døgn endnu ikke giver Askosporer, ligesom den i det hele taget kun udvikler disse Dannelser i meget ringe Grad, hvad der allerede er meddelt tidligere, først af Hansen og senere af Jørgensen og Will, ligesom det ogsaa er omtalt i vor første Meddelelse.

Hovedresultatet paa dette Punkt blev altsaa, at der iblandt de 19 undersøgte Arter fandtes 5, der ligesom Carlsberg Undergjær Nr. 1 kunne analyseres ved 25° C.

Vi komme nu til det andet Hovedpunkt i vor Undersøgelse: Kunne de øvrige Kulturarter, som ikke lade sig analysere ved 25° C., analyseres ved den for Carlsberg Undergjær Nr. 2 fundne Temperatur 15—16° C., eller maa der søges andre Temperaturer?

Inden vi indlade os paa denne Undersøgelse, maa vi først spørge om, hvorledes Hansens tre Sygdoms-Gjærformer i dette Tilfælde forholde sig. Med Hensyn til Sacch. Pastorianus I indtræder Askosporedannelsen ved 15° C. efter 50 Timer (ifølge Hansens ovenfor citerede Afhdl.). Vi have fundet, at den ved

---

iagttaget en af disse Arter i sygt Øl, nemlig Sacch. Pastorianus I. Ved de Forsøg, som han anstillede med den, blev Rigtigheden af Hansens Resultater bekræftede. Denne Art synes at være hyppig, og den hører aabenbart til en af de allerfarligste Sygdomsformer i Undergjærings Bryggerier.

$15^1/_2{}^0$ C. kan paavises ved en Indblanding af kun 1 % med Lethed efter 72 Timer, medens $^1/_2$ % under de samme Omstændigheder vel kan paavises, men dog med nogen Vanskelighed. Sacch. Pastorianus III danner ved 16^0 C. (ifølge Hansen) Askosporer efter 53 Timer; ved vore Undersøgelser har det vist sig, at den ved $15^1/_2{}^0$ C. ligesom den forrige ved en Indblanding af 1 % let kan paavises efter 72 Timer, ved $^1/_2$ % derimod vanskeligere. Det samme gjælder ogsaa om Sacch. ellipsoideus II, for hvilken ingen Angivelse findes ved 15—16^0 i ovennævnte Afhandling, men om hvilken vi have fundet, at den ved $13^3/_4$—15^0 C. danner Askosporer efter næppe 3 Døgn. Disse Former kunne altsaa alle efter 72 Timer paavises endog ved en Indblanding af kun 1 %, og selv ved $^1/_2$ % Indblanding er dette muligt om end med nogen Vanskelighed.

Saafremt altsaa de af os undersøgte Kulturarter, som ikke lade sig analysere ved 25^0 C., forholde sig som Carlsberg Undergjær Nr. 2, vil det kunne lade sig gjøre ligeoverfor disse at anvende en Temperatur af 15—16^0 C. til Brug ved Analysen. Idet de undersøgtes ved 15—16^0 C., viste det sig, at Halvdelen (7 af 14) af dem først udviklede Askosporer efter 4 Døgn (hertil hører blandt andet Carlsberg Undergjær Nr. 2), dette var det hyppigste; af Resten fremkom hos enkelte disse Dannelser endog først efter 5—6 Døgn, men der fandtes ogsaa nogle (4), hos hvilke Askosporedannelsen indtraadte tidligere end 4 Døgn. Til disse høre bl. a. Hofbräuhaus Gjæren, Augustinerbräuhaus Gjæren og Elions Gjær. Den af disse Arter, hvis Askosporer ved denne Temperatur udvikles tidligst, er Augustinerbräuhaus Gjæren, som ved 15^0 C. giver Askosporer efter 82 og ved 16^0 C. efter 73 Timers Forløb, derefter kommer Hofbräuhaus Gjæren, som ved 15^0 C. giver Askosporer efter 90 og ved 16^0 C. efter 72 Timer, medens Elions Gjær først udvikler disse Dannelser efter 95—97 Timer ved en Temperatur af 15—16^0 C. Vi se altsaa, at en Temperatur af 15—16^0 C. vel i de fleste, men ikke i alle Tilfælde er passende, medens derimod en Temperatur af 15^0 C. og en Analyse efter 72 Timer vil kunne anvendes for alle vore 14 Former.

Resultatet af denne Del af vor Undersøgelse er altsaa dette: at de 14 af de 19 Kulturarter, altsaa det langt overvejende Antal, slutte sig, hvad Analysen angaar, nærmest til Carlsberg Undergjær Nr. 2, de kunne altsaa prøves ved 15^0 C., idet de vilde Former her have dannet deres Askosporer efter 72 Timer, Kulturformerne tid-

ligst efter 82—90 Timer og i Reglen meget senere. Dette gjælder for Indblandinger af indtil 1 %—½ %, dog er Undersøgelsen med den sidstnævnte ringe Indblanding vanskelig.

Vor Undersøgelse er imidlertid ikke alene gaaet ud paa at bestemme Tiden for Askosporedannelsen hos Kultur-Undergjærarterne ved de omtalte Temperaturer 25° og 15° C. Ved flere andre Temperaturer mellem 35° og 10° C. ere lignende Undersøgelser foretagne, og der viste sig da ogsaa ved disse stor Forskjel for de forskjellige Arters Vedkommende, navnlig naar Hensyn toges til Maximums- og Minimumstemperaturerne. Der var saaledes Former, som ved 11—12° C. udviklede Askosporer efter 6 Døgn, andre først efter 9—10 Døgn — og dette var det almindelige —, medens andre først udviklede disse efter 12—14, ja endog først efter 17 Døgn, atter andre havde endnu efter 20—24 Døgns Forløb intet Spor af disse Dannelser. Ligeledes udvikledes hos nogle Former ved 30°—32° C. Askosporer efter 2—3 Døgn, medens andre ved disse Temperaturer overhovedet ikke frembragte Askosporer.

Der kunde nu spørges, om der blandt disse Temperaturer ikke fandtes nogle, som kunde anvendes ved Analysen, og vi ville da først betragte Temperaturen ved c. 30° C. For en enkelt af Sygdoms-Gjærformernes Vedkommende, nemlig Sacch. ellipsoideus II, vil en Analyse ved denne Temperatur have sin store Betydning; denne Form er nemlig den værste, hvad Sygdommen Gjærtykhed angaar (se Hansens Afhandling: »Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe«, 2 B. 2 Hefte p. 93). Om ovennævnte Form vide vi ifølge Hansens tidligere citerede Afhandling, at den ved 29—31½° C. udvikler Askosporer efter 22—23 Timer, og ifølge vore Undersøgelser kan den ved 30° C. paavises efter 43 Timer, selv ved en Indblanding af kun 1 % og ½ %.

Det vil altsaa være muligt at paavise en Infektion af denne Art hos dem af vore Kulturformer, som ved den nævnte Varmegrad enten først efter 3 Døgn eller endnu senere eller slet ikke udvikle Askosporer. Af de 14 Former, som kunne analyseres ved 15° C., kunne ifølge vore Undersøgelser 9 tillige analyseres ved 30° C., om de 5, som kunne analyseres ved 25° C., vide vi sikkert, at 1 er istand dertil, og maa formode, at det for de andres Vedkommende ogsaa er Tilfældet; endelig kan Carlsberg Undergjær Nr. 1 ogsaa regnes med til disse, saaledes at vi i alt faa 15 af 20, som, naar Spørgsmaalet er om en Infektion af Sacch. ellipsoideus II, lade sig analysere ved 30° C. for denne Syg-

domsgjær selv ved en saa ringe Indblanding som 1 %—½ % efter et Tidsrum af 43 Timer.

Der kunde endelig være Tale om, om man ikke ogsaa ved en lavere Temperatur end 15° C. kunde foretage Analysen for vild Gjær, og vi have da undersøgt, hvorledes Forholdet stiller sig ved 12° C.

Ved denne Temperatur danner Sacch. Pastorianus I Askosporer efter 68 Timer og kan efter 4 Døgn paavises ved en Indblanding af 1 %—½ %. Sacch. Pastorianus III danner Askosporer efter 3 Døgn, men kan først paavises efter 5¾ Døgn ved en Indblanding af 1 %—½ %. Sacch. ellipsoideus II danner ligeledes Askosporer efter 3 Døgn, men kan ved en Indblanding af 1 % først paavises efter 4¾ Døgn og ved en Indblanding af ½ % først efter 5¾ Døgn. Det maa imidlertid strax bemærkes, at det er forbundet med stor Vanskelighed at konstatere saa ringe Indblandinger.

Vore Kulturformer udvikle, som allerede ovenfor bemærket, i Almindelighed deres Askosporer paa et senere Tidspunkt ved denne Temperatur, saafremt de overhovedet ere i Stand dertil, men der findes dog ogsaa Former, hvor Askosporedannelsen indtræder omtrent lige saa tidligt (efter 6 Døgn) som hos Sygdoms-Gjærformerne; disse lade sig naturligvis ikke analysere ved denne Temperatur. Dette er saaledes Tilfældet med 3 af vore 19 Kulturracer; for de andres Vedkommende have vi fundet, at Analysen vil kunne foretages med 11 af de Former, som lade sig analysere ved 15° og med 3 af de Former, som kunne analyseres ved 25°. Resten af disse kunne derimod ikke analyseres ved 12° C. Vi faa i saa Tilfælde i alt 14 Former, for hvilke den omtalte Temperatur vil kunne benyttes til Analyse efter 6 Døgns Forløb, dog vil det vistnok ofte være forbundet med store Vanskeligheder at paavise en ringere Indblanding end 2 %; at det imidlertid kan lade sig gjøre, vise vore Forsøg.

Ihvorvel denne Temperatur altsaa i de fleste Tilfælde kan anvendes, vil Analysen her dog altid for Praxis komme til at spille en mindre væsentlig Rolle, og man vil i alle de Tilfælde, hvor den for Analysen gunstigste Varmegrad 25° C. ikke kan benyttes, vælge 15° C. Grundene til, at man i Almindelighed ikke vil anstille Analysen over Indblandinger af vild Gjær ved 12° C., ere disse:

For det første findes der, som nylig angivet, Kulturarter, som ikke lade sig analysere ved denne Temperatur. For det andet tager Analysen ved 12° C. længere Tid end ved 15° og 25° C.,

og det er derfor naturligt at vælge disse, da tilmed, som vi have set, alle de Former, der kunne analyseres ved 12° C., tillige kunne analyseres enten ved 15° eller ved 25° C. For det tredie kan Analysen her ikke udføres med den Finhed som ved de højere Temperaturer; ringere Infektioner end 2 % ville kun med største Vanskelighed kunne paavises; selv naar Talen er om en stærkere Infektion vil det i mange Tilfælde frembyde en Del Besvær at paavise denne. Det er nemlig, som vi allerede i vor første Meddelelse berørte, altid kun et vist Procentantal af Celler, som danne Askosporer, men dette Tal bliver end yderligere reduceret, naar man som her ved 12° C. nærmer sig stærkt til de Grændser, udenfor hvilke Cellerne overhovedet ikke formaa at frembringe disse Dannelser. Dette er Tilfældet for 2 af Sygdoms-Gjærformernes Vedkommende, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II, hvis Minimumstemperaturer ligge mellem 4° og 8° C., medens den tredie, Sacch. Pastorianus I, endnu ved en meget lavere Temperatur (3°—4° C.) kan udvikle Askosporer (Minimumstemperaturen er her mellem ½° og 3° C.); denne Form er derfor ogsaa den letteste at paavise ved denne Temperatur.

Det drejer sig imidlertid, naar Talen er om Analyser ved 15° og 12° C., om Temperaturer, som ere noget vanskeligere at opnaa end 25° C., idet de ligge saa nær ved den Temperatur, vi i Almindelighed have i vore Arbejdsrum; Thermostater til disse Forsøg maa derfor anbringes paa et koldere Sted f. Ex. i en Kjælder, hvis de ikke kunne sættes i Forbindelse med en Iskasse; vi henvise i saa Henseende til Panums Thermostat, der er omtalt og afbildet i I Bd. 1 Hefte p. 48 o. fl.

Til vore Askosporekulturer anvendte vi ved disse Undersøgelser Kulturskaale, der vare dækkede af et meget løst sluttende Laag og ikke som tidligere af en Glasplade. Det gjælder ved disse Kulturer paa Gibs for at fremkalde Askosporedannelsen om at skaffe Gjæren en saa rigelig Adgang til Luft som muligt; anvender man derfor Glasskaale med tæt sluttende Laag — og dette er forsøgt her i Laboratoriet, idet man brugte Skaale, som til en vis Grad vare omdannede til tohalsede Pasteurske Kolber, saa at al Infektion holdtes ude —, kan det godt hænde sig, at Askosporedannelsen aldeles hæmmes, eller at i alle Tilfælde kun et yderst ringe Procentantal af Cellerne udvikle disse Dannelser. Dækkes Skaalen derimod af en Glasplade, som ikke slutter tæt (Skaalens Rand maa ikke være tilsleben), er der rigelig Lufttilførsel, men Udviklingen af Bakterier finder rigtignok ogsaa især ved de højere Temperaturer Sted i en ikke ringe Grad, hvad der dog ikke synes

at have nogen væsentlig Indflydelse paa de større eller mindre Mængder af askosporedannede Celler. Denne Glasplade maa imidlertid, for ikke at stødes af, lakkes fast til Skaalen, og man er da nødt til, hver Gang der skal tages Prøver, og Glaspladen altsaa skal løftes af, at skulle tage Kulturerne ud af Thermostaten i nogen Tid for atter at lakke Glaspladen fast til Skaalen, under hvilken Operation disse ere udsatte for en Afkøling eller Opvarmning, som kan faa Indflydelse paa Askosporedannelsen. Vi have derfor forsøgt de ovenfor omtalte Skaale med løst sluttende Laag, og efterat det havde vist sig, at Askosporedannelsen ved forskjellige Temperaturer indtraf lige saa let ɔ: lige saa tidligt og lige saa hyppigt som ved de gamle Skaale med Glasplade, ere de blevne indførte til Brug her i Laboratoriet i Stedet for de tidligere anvendte (se Fig.).



Vi meddele her Kulturskaalens, Laagets og Gibsblokkens Størrelsesforhold. Skaalens Højde er 5 Ctm., dens Bund 7,1 Ctm., og dens øverste Diameter 8 Ct., alt udvendigt Maal. Laagets Højde er 2 Ctm. udv. Maal, dets indvendige Diameter 9 Ctm. Gibsblokkens Højde er 3 Ctm., dens nederste Flade 5,3 Ctm., og dens øverste Flade 3,8 Ctm. i Diameter.

Maalene angives kun som et Exempel; man har selvfølgelig stor Frihed i den Retning.

Disse Skaale ere lettere at behandle end den gamle Model ved Sterilisationen. Denne kan foregaa enten med en almindelig Bunsensk Gaslampe, ved Hjælp af hvilken Skaalen, Laaget og Gibsblokken flammerenses, eller ved 1 Times Ophedning i en almindelig Varmekasse ved c. 115° C., efterat Gibsblokken er anbragt i Skaalen, Laaget sat paa, og det hele indpakket i 2 Lag Filtrerpapir. Det er her aldeles nødvendigt nøje at paase, at Temperaturen i Kassen ikke stiger for højt, saaledes at Gibsen taber for meget af sit Krystallisationsvand, i saa Tilfælde smuldre nemlig Blokkene hen ved Tilsætningen af den Mængde Vand, som er nødvendig til Forsøgene. Man maa derfor nøjagtig kjende Temperaturen inde i Kassen, som ofte navnlig tæt ved Bunden er ikke saa lidt højere (vi have endog fundet en Forskjel af indtil 30° C.) end den Temperatur, som Thermometret, der gjennem Kassens Loft er sænket ned i dennes Indre, angiver. Den angivne Temperatur c. 115° C. gjælder derfor selvfølgelig om Kassens Indre, altsaa den Varmegrad, for hvis Paavirkning Blokkene virkelig blive

udsatte. Er Temperaturen ved Bunden af Kassen væsentlig højere, kan man ved at indskyde 1 à 2 Mellembunde af Asbest, som ere forsynede med Huller og adskilte fra hinanden ved smaa Træstykker eller desl., tildels hæve denne Ulempe.

Hvad Forfærdigelsen af Gibsblokkene angaar, bemærkes følgende. Saafremt disse støbes af en Gibser, maa man gjøre opmærksom paa, at Formen forinden Støbningen ikke overstryges med Olie eller Fedt. Det har nemlig vist sig her paa Laboratoriet, at den fedtede Overflade, som Blokkene derved faa, virker hæmmende paa Sporedannelsen; maaske kan ogsaa Alun, som stundom blandes i Gibspulveret, virke skadeligt; derover haves dog ingen Erfaring. Man kan imidlertid meget let selv støbe Gibsblokkene. Man bruger dertil en Blikform og udrører 2 Maal Gibspulver i $^{3}/_{4}$ Maal Vand.

Med Hensyn til Gibsblokkenes Tørhed eller Fugtighed, idet Gjæren udsaas, er der paa Laboratoriet gjort Forsøg, som vise, at dette Forhold ikke har nogen Betydning. Med Sacch. ellipsoideus II foretoges saaledes Udsæd, dels paa tørre, stærkt sugende Gibsblokke, dels paa Blokke, som forinden Udsæden vare blevne gjorte fugtige, og Resultatet blev i begge Tilfælde det samme. Andre Forsøg viste ogsaa hen til, at Blokkens Beskaffenhed i den Retning ingen Forskjel gjorde, dog tør man naturligvis ikke ligefrem sprøjte Vand ovenpaa Gjæren.

Det har altsaa ved vore Forsøg vist sig, at de hidtil undersøgte 20 Kulturarter med Hensyn til deres Analyse efter Hansens Methode lade sig dele i 2 Hovedgrupper, hvoraf den ene bedst analyseres ved 25° C. efter 40 Timer, den anden derimod ved 15° C. efter 72 Timer, og at man i begge Tilfælde er i Stand til at paavise en saa ringe Indblanding som 1 % og $^{1}/_{2}$ % vild Gjær. Hvad den førstnævnte Gruppes Arter angaar bemærkes, at ogsaa nogle af disse, men ikke alle, kunne analyseres ved 15° C.

Som det erindres, blev Methoden kun prøvet med Hensyn til de tre Sygdomsformer: Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II, men betragte vi de af Hansen udfundne Kurver for Endosporernes Udviklingsgang ogsaa hos de to andre af ham studerede vilde Gjærarter, Sacch. Pastorianus II og Sacch. ellipsoideus I, finde vi, at disse ligeledes gaa ind under ovenstaaende Hovedregel.

Methoden har følgelig ogsaa i denne Retning en udstrakt Anvendelighed.

December 1887.



Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

VII.

Om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne.

(Første Afhandling.)

---

1. Indledning.

Ved det 12te skandinaviske Naturforskermøde, som for omtrent 8 Aar siden blev holdt i Stockholm, meddelte jeg nogle Bidrag til Alkoholgjærsvampenes Naturhistorie og kom derved ogsaa til at berøre de Experimenter, som jeg havde begyndt at anstille med Hensyn til disse Svampes Forhold til Sukkerarterne. I de forløbne Aar har jeg fortsat disse Undersøgelser og herved erholdt Resultater, som paa flere Maader udvide vor Kundskab om disse interessante Væseners Fysiologi. Et Omrids af mine Studier gav jeg i Juli 1886 ved det 13de skandinaviske Naturforskermøde i Christiania, og en Del af de der meddelte Kjendsgjerninger ere optagne i Alfred Jørgensens Bog, »Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie«, Berlin 1886; i en Række Afhandlinger agter jeg nu efterhaanden at give en sammenfattende og udførlig Fremstilling af det samme Emne, behandlet fra forskjellige Synspunkter. De paa dette Sted beskrevne Forsøg bleve anstillede med de fire Sukkerarter, Saccharose, Maltose, Lactose og Dextrose, og med henved 40 Svampearter, nemlig: de sex Saccharomyces, som jeg i 1883 har indført i Literaturen, endvidere med Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus, Sacch. membranæfaciens, 10 Arter af Bryggeri–

undergjær (Sacch. cerevisiæ), Mycoderma cerevisiæ, Sacch. apiculatus, 7 Arter af Pasteurs saakaldte Torula, Monilia candida, Mucor erectus, Mucor spinosus, Mucor Mucedo, Mucor racemosus og nogle ikke nærmere beskrevne Arter af sidstnævnte Slægt samt Oidium lactis. Det er saaledes den mest omfattende Undersøgelse, der hidtil paa dette Omraade er bleven udført. At der dog i Naturen findes endnu flere fysiologiske Kombinationer end dem, jeg har iagttaget, derom er jeg forvisset, men jeg har tillige Grund til at antage, at mine Studier have været tilstrækkelig udførlige til at give os en i det Hele overskuelig Forestilling om den Mangfoldighed, der ogsaa i den Retning findes.

Hvad vi hidtil have vidst herom er temmelig lidet, navnlig var Arternes Forhold til Maltosen i de allerfleste Tilfælde ukjendt. Stilles Spørgsmaalet fra Gjæringsindustriens Standpunkt, har denne Sukkerart imidlertid netop særlig Interesse, men ogsaa theoretiske Problemer knytte sig dertil.

Af praktiske Grunde bleve Bakterierne ikke tagne med, skjøndt der blandt dem ligeledes findes flere, som kunne fremkalde Alkoholgjæring.

Om nogle af Arterne har jeg i mine tidligere Afhandlinger givet andre Oplysninger (se dette Tidsskrifts I B. 2 Hefte 1879; 3 Hefte 1881; 4 Hefte 1882; II B. 2 Hefte 1883; 4 Hefte 1886); en Del behandles derimod her for første Gang.

For Sammenhængens og Oversigtens Skyld maatte der tages enkelte med, som vel morfologisk stemme overens med visse Alkoholgjærsvampe, men som dog ikke fremkalde Gjæring.

Sukkerarterne bleve dels anvendte i vandige Opløsninger uden nogen Tilsætning, og naar intet Andet bemærkes, var dette bestandig Tilfældet, dels med en Tilsætning af det af Pasteur og Andre saa hyppig benyttede Gjærvandsafkog. Den anvendte Ølurt var almindelig humlet Urt (14—15 % Ball.), som den bruges i Undergjæringsbryggerier til Lagerøl. Alle Vædsker vare selvfølgelig steriliserede, og der blev bestandig arbejdet med absolute Renkulturer. Disse bleve for Gjærcellernes Vedkommende fremstillede efter den i mine tidligere Afhandlinger beskrevne Methode. Hos Mucor-Arterne tog jeg mit Udgangspunkt fra et eneste Sporangium, altsaa ogsaa fra Individet. At dette i Virkeligheden er den eneste sikre Vej, har jeg i Aarenes Løb havt rig Lejlighed til at erfare.

Figurerne ere tegnede dels af Hr. Assistent Holm, dels af mig selv. Forstørrelsen er i alle Tilfælde 1000 Gange lineær.

Ifølge sin Natur maa dette Arbejde komme til at omfatte et stort Antal ensartede Analyser og blive rigt paa Enkeltheder; thi kun ad den Vej kan en Sammenligning finde Sted, og et Overblik over den store Mangfoldighed vindes. I hver Afdeling har jeg sat Analyserne, hvorpaa det Hele bygges, i Spidsen og derefter fremhævet de almindelige Resultater, der kunne uddrages deraf. Endelig findes i Afhandlingens sidste Afsnit et Tilbageblik paa det Hele.

2. Saccharomyces.

De sex Arter, hvormed jeg i de senere Aar navnlig har experimenteret, nemlig Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus I og Sacch. ellipsoideus II udvikle alle Invertin; de omdanne herved Saccharose til Invertsukker og forgjære dette. At de ogsaa forgjære Dextrose, behøver næppe at fremhæves. I Maltoseopløsninger fremkalde de ligeledes en kraftig Gjæring, navnlig naar man tilsætter lidt Næringsvædske, som f. Ex. det omtalte Gjærvandsextrakt. De ere alle kraftige Gjærsvampe, som i Ølurt ved almindelig Stuevarme i Løbet af 14 Døgn med Lethed give 4—6 Vol. % Alkohol. I Lactose formaa de derimod ligesaa lidt som nogen af de talrige hidtil undersøgte Alkoholgjærsvampe at fremkalde nogen Gjæring. Til sidstnævnte Resultat kom ogsaa andre Forskere, f. Ex. Pasteur, Fitz, Duclaux[1]). Hvad ovenfor er meddelt gjælder ogsaa om alle de i Industrien anvendte Undergjærformer, som ere blevne undersøgte.

Paa en helt anden Maade stille derimod Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus og Sacch. membranæfaciens sig.

Sacch. Marxianus nov. spec.

Med dette Navn betegner jeg en Art, som, naar den dyrkes i Ølurt efter den Fremgangsmaade, jeg i mine tidligere Afhandlinger har angivet, udvikler smaa ovale og ægformede Celler,

---

[1]) I den nyeste Tid er der dog kommen en Meddelelse fra Duclaux (Annales de l'institut Pasteur. 1887. Nr. 12) om, at han i Mælk har opdaget en Gjærsvamp, som formaar at fremkalde Alkoholgjæring i en Lactoseopløsning. En Omdannelse af Lactose til Galactose blev ikke iagttagen. Om denne interessante Art har endogen Sporedannelse eller ej, blev ikke afgjort; han kalder den desuagtet for en Saccharomyces. Meget i hans Beskrivelse tyder imidlertid hen paa, at den nærmest hører til den Gruppe, som i det Følgende omhandles under Navnet Torula.

væsentlig af samme Udseende som Sacch. exiguus og Sacch. ellipsoideus. Imellem disse optræder der imidlertid hurtigt tillige langstrakt pølsedannede, ofte i Kolonier, og lader man Urt-Kulturen henstaa en Tid, danner der sig smaa skimmellignende Legemer, som dels svømme om i Vædsken, dels lejre sig i Bundfaldet. De bestaa af sammenfiltrede, mycelieagtige Kolonier, væsentlig af samme Beskaffenhed som de Hindedannelser, jeg har beskrevet og afbildet hos mine sex foran nævnte Saccharomyceter[1]), de ere ogsaa ligesom disse opbyggede af Led, som ved Forbindelsesstederne ere indsnevrede og let skilles ad. Vi have altsaa her en Art, som vi efter Reess ligesaa godt kunne henføre til Gruppen Sacch. Pastorianus som til Sacch. exiguus eller Sacch. ellipsoideus. Den hører til de Saccharomyceter, som ikke ere særlig villige til at udvikle Endosporer. Disse udmærke sig derved, at de hyppig ere mere eller mindre nyreformede; som sædvanlig findes dog tillige runde og ovale Former. Ogsaa hos Sporerne af andre Saccharomyceter har jeg iagttaget lignende Uregelmæssigheder, men hos denne ere de særlig fremtrædende. Efter 2—3 Maaneders Henstand fandtes i Urtkulturerne i de tohalsede Kolber kun Antydning af Hinde og heri kun faa Celler, dels kort pølsedannede, dels ovale.

Det er en af de Arter, med hvilke det under visse Kulturbetingelser paa fast Næringssubstrat er lykkedes for mig at bringe Saccharomyces-Cellen til at udvikle et Mycelium, lig det, der saa hyppig optræder hos flere Skimmelsvampe med Gjærcelle-Konidier, f. Ex. hos min Monilia candida.

I Ølurt gav den, endog efter lang Henstand, kun 1—1,5 Vol. °/o Alkohol. I Overensstemmelse hermed fremkaldte den ikke nogen Gjæring i Maltose. Saccharoseopløsninger bleve inverterede, og i en saadan, bestaaende af c. 15°/o Saccharose i Gjærvand, dannede den efter 18 Døgn ved c. 25° C. 3,75 Vol. °/o Alkohol, og efter 38 Døgn 7 Vol. °/o.

I to Gjærvandsopløsninger, hvoraf den ene indeholdt 10 og den anden 15°/o Dextrose, gav den under lignende Omstændigheder efter 14 Døgns Forløb i det første Tilfælde 5,1 og i det sidste 5,6 Vol. °/o Alkohol. Efter 1 Maaneds Henstand fandtes i førstnævnte Kolbe 6,5 og i sidstnævnte c. 8 Vol. °/o Alkohol.

Denne interessante Saccharomycet har jeg opkaldt efter den fortjente Zymotekniker Louis Marx i Marseille, som først har opdaget den, nemlig paa Vindruer.

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Hindedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 4 Hefte. 1886. Tavle III—VIII.)

Sacch. exiguus.

Dette Navn har jeg knyttet til en Saccharomycet, der under de foran berørte Kulturbetingelser udvikler en Vegetation, som stemmer ret godt overens med de Celleformer, som Reess betegner saaledes; jeg foreslaar derfor, at det herefter anvendes for den af mig her behandlede Art. Om Reess netop har tænkt paa denne, er naturligvis ikke til at afgjøre. Saadanne smaa Gjærceller som de, der af ham og hans Efterfølgere bleve kaldte Sacch. exiguus, kunne udvikles af enhver Saccharomyces-Art, og under visse Betingelser i et stort Overtal.

Den er vistnok kun lidet villigere end den nærmest foregaaende til at udvikle Endosporer. Ejheller Hindedannelsen foregaar med nogen Kraft; endog efter flere Maaneders Henstand dannede den i Urt-Kulturer i Pasteurske Kolber kun Antydninger deraf, men derimod en ret vel udviklet Gjærringdannelse. Hindens Celler ligne i det Hele Bundgjærens, dog ere kort pølsedannede og smaa Former heri vistnok hyppigere. Jeg fandt den for nogle Aar siden temmelig almindelig i Gjær fra en Pressegjærfabrik. Fra Sacch. Marxianus adskiller den sig fornemmelig derved, at den i Urt-Kulturer ikke udvikler de mycelielignende Kolonier og paa fast Næringssubstrat intet Mycel.

I sit Forhold til Sukkerarterne ligner den derimod denne, hvilket allerede blev fremhævet i min foran citerede Afhandling fra 1886. Under de angivne Forsøgsbetingelser udfoldede den dog saavel i Saccharose- som i Dextroseopløsningerne en kraftigere Gjærvirksomhed.

I Urt-Kulturer gav den ligesom foregaaende Art kun 1—1,3 Vol. % Alkohol, og efter flere Maaneders Henstand var denne Alkoholmængde ikke forøget.

I Maltoseopløsning fremkaldte den ingen Gjæring; den inverterede en Saccharoseopløsning, og i Opløsninger af saavel 10 som 15 % Rørsukker i Gjærvand gav den efter 14 Døgns Kultur ved 25° C. 5,6 Vol. % Alkohol. I den førstnævnte Vædske var det da ej muligt at paavise Spor af Sukker, i den sidste var der endnu en Rest tilbage. Efter 26 Døgns Henstand fandtes i Kolben med den stærke Sukkeropløsning 6 Vol. % Alkohol, men bestandig kunde en Rest Invertsukker paavises. I et lignende Forsøg med sidstnævnte Vædske henstod Kolben 5 Uger; der fandtes da 5,7 Vol. % Alkohol. Maximum for denne Dannelse synes altsaa under de givne Forhold at ligge i Nærheden af 6 %.

I to Opløsninger, bestaaende af 10 og 15 % Dextrose i Gjærvand, gav den under lignende Omstændigheder efter 14 Døgns

Henstand henholdsvis 6,4 og 8 Vol. % Alkohol, og efter en Maaneds Henstand fandtes i begge Tilfælde endnu den samme Alkoholmængde.

Af Saccharomyces-Arter, der ligesom Sacch. exiguus og Sacch. Marxianus vel kunne forgjære Saccharose og Dextrose, men derimod hverken Maltose eller Lactose, har jeg iagttaget flere. Hidtil manglede jeg dog bestandig Tid til at underkaste dem et nøjere Studium.

Vi komme derefter til en ny Art:

Sacch. membranæfaciens nov. spec.

I Urt dannede den hurtigt paa hele Vædskens Overflade en stærkt udviklet, lysegraa, foldet Hinde, bestaaende af hovedsagelig pølsedannede og langstrakt ovale Celler, rige paa Vakuoler og i Almindelighed med Udseende, som om de vare mere eller mindre udtømte. De optræde dels i Kolonier, dels enkeltvis, og imellem dem findes rigelig Luftindblanding. Sacch. membranæfaciens udmærker sig blandt andet ved den Yppighed, hvormed dens Endosporer dannes, disse udvikles nemlig ikke blot i stort Antal under de for de foregaaende Arter angivne Dyrkningsforhold[1]), men tillige almindelig i Hinderne.

De ere ofte rundladne, men dog i Reglen af uregelmæssig Form. I Ranvier's Kammer med Ølurt som Næringsvædske iagttog jeg deres Spiring efter 10—19 Timers Henstand ved almindelig Stuevarme; sprængte Modercellevægge vare da hyppige; kun Knopskydning fandt Sted, men ingensinde Myceliedannelse. I Spredekulturer i Næringsgelatine, bestaaende af Ølurt med 5—6% Gelatine, dannede den matte, graa Pletter, ofte med en svag rødlig Tone; de vare i Reglen fladt udbredte, rundagtige og rynkede. Denne Beskrivelse gjælder imidlertid kun de Vegetationer, som vare fuldstændig brudte igjennem; de endnu af Gelatinen indesluttede Pletter havde nemlig et helt andet Udseende, og i de Tilfælde, hvor den dækkende Gelatinehinde var saa tynd, at man kun med megen Møje kunde iagttage den, gjorde de Indtryk af at tilhøre en hel anden Art, et nyt Exempel paa, hvilke Fejltagelser man ad den Vej kan blive udsat for. De beskrevne frembrudte Vegetationspletter kunne med Lethed skjelnes fra de Pletter, som under lignende Forhold dannes af alle de andre hidtil undersøgte

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 2 Hefte 1883, p. 65).

Saccharomyceter; derimod have de stor Lighed med dem, der dannes af Mycoderma vini og Mycod. cerevisiæ[1]).

Hverken i Ølurt eller i Opløsninger af Saccharose, Dextrose, Maltose eller Lactose fremkaldte den Alkoholgjæring, og den formaaede ejheller at invertere Saccharosen.

Dens Vegetationer paa Næringsgelatine udmærkede sig ved den forholdsvis store Lethed, med hvilken de bevirkede, at denne blev flydende. Saavel ved sin stærkt udprægede Hindedannelse som navnlig ved de netop fremhævede fysiologiske Ejendommeligheder indtager den en særegen Plads iblandt de øvrige ægte Saccharomyceter.

Jeg fandt den i en gelatinøs Masse, der havde udviklet sig paa beskadigede Rødder af Ælmetræer, der vare angrebne af forskjellige Svampe. Disse Træer staa paa en aaben Plads tæt ved min Bolig paa Gl. Carlsberg. I flere Henseender har denne nye Art Lighed med de i Literaturen saa hyppig omtalte Mycoderma vini og Mycod. cerevisiæ eller Sacch. Mycoderma, som de ogsaa, men med Urette, ere blevne kaldte. Den adskiller sig dog fra disse foruden ved flere Smaaforskjelligheder især derved, at den, som anført, er en ægte Saccharomycet med meget udpræget Endospore-Udvikling, hvilken derimod aldeles mangler hos hine. De sporelignende Legemer, der af Reess og Engel omtales hos den saakaldte Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini og Mycod. cerevisiæ), maa, som jeg i en tidligere Afhandling allerede har fremhævet, nærmest opfattes som fedtagtige Legemer. Brefeld og flere andre Forskere søgte ligesom jeg selv bestandig forgjæves efter virkelige Sporer hos dem. De hos J. de Seynes og Cienkowski beskrevne Sporer have maaske samme Betydning, muligvis hidrøre de ogsaa fra forskjellige Arter af ægte Saccharomyceter, som tilfældigvis fandtes indblandede i det urene Materiale, hvormed disse Forskeres Forsøg bleve anstillede. Herved bliver det da ogsaa forklarligt, at Cienkowski kunde udtale den Anskuelse, at Sacch. apiculatus, Sacch. Pastorianus o. s. v. kun ere Udviklingsformer af Mycoderma vini.

Medens de nævnte Mycoderma-Arter høre til de hyppigst forekommende Svampe og derfor utallige Gange ere blevne undersøgte, maa Sacch. membranæfaciens derimod antages at være en sjelden Art; jeg har i hvert Fald uagtet mange Aars flittig Søgen

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Methoder til Fremstilling af Renkulturer af Saccharomyceter og lignende Mikroorganismer. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 4 Hefte 1886, p. 162).

kun een eneste Gang fundet den. Under Forhold, hvor Mycod. cerevisiæ og Mycod. vini (om disse Arter se p. 229) hurtig give en spontan Vegetation, optraadte den aldrig.

Vi have altsaa her Gjærceller, som vel høre til en aldeles typisk Saccharomyces-Art, men som dog i fysiologisk Henseende ikke kunne henregnes til Alkoholgjærsvampene. Noget Lignende er fornylig blevet paastaaet om en anden Art, der optræder med smaa (1,5—3 Mikromillim.) brunladne Celler, hvilke formere sig ved Knopskydning. I Næringsvædsker med Mælkesukker, Drue- eller Rørsukker udvikler den sig langsomt og danner et mørkt Bundfald, men uden at fremkalde Alkoholgjæring, og det angives, at den paa Mælkeserum skulde kunne udvikle Endosporer (Marpmann, Archiv der Pharmacie Aug. 1886). Da Forfatteren var saa venlig at sende mig en levende Kultur af disse Celler, blev der dermed anstillet nogle Undersøgelser her paa vort Laboratorium. Hovedresultatet blev, at de ikke tilhøre en Saccharomyces-, men en Cladosporium- eller en Fumago-Art. Ved passende Dyrkning optraadte der vel smaa Legemer i Cellerne, som have Lighed med Endosporer, men de spire ikke og have ejheller Sporens Bygning, og ved Tilsætning af Vinaand opløses de.

Indtil videre er altsaa Sacch. membranæfaciens den eneste bekjendte Saccharomycet, som ikke giver Alkoholgjæring, og den eneste, som mangler Invertin; alle de øvrige fremkalde, som det foran blev vist, kraftig Alkoholgjæring i Saccharose- og i Dextrose- og nogle tillige i Maltoseopløsninger, andre derimod ikke i sidstnævnte.

Resultater.

Ved disse Studier er vor tidligere Opfattelse af Slægten Saccharomyces i kjendelig Grad bleven forandret; i fysiologisk Henseende har det saaledes vist sig, at dens Arter ikke længere uden videre kunne karakteriseres som værende Alkoholgjærsvampe, og i morfologisk Henseende blev der gjort den vigtige Iagttagelse, at idetmindste nogle kunne udvikle et Mycelium. Ogsaa for Species-Erkjendelsen gave mine Undersøgelser nye og bestemte Holdepunkter, idet vi saa, hvilke skarpe Differenser, der i flere Tilfælde træde frem i Cellernes Forhold til Sukkerarterne.[1])

---

[1]) Hovedvægten i nærværende Afhandling blev, som det erindres fra Indledningen, lagt derpaa at bestemme, om de Arter, hvormed jeg experimenterede, kunde forgjære de nævnte fire Sukkerarter eller ej.

Alle de iagttagne Saccharomyceter med Undtagelse af een Art (Sacch. membranæfaciens) vare altsaa typiske Alkoholgjærsvampe med Invertinudsondring; de forgjærede saavel Saccharose som Dextrose, sidstnævnte med større Kraft end førstnævnte, de fleste tillige Maltose. Heri have vi en Forklaring til den Kjendsgjerning, at disse Svampe spille en saa overordentlig betydningsfuld Rolle i Gjæringsindustrien. Ifølge ovenstaaende kunne de fleste nemlig ikke blot anvendes ved Fabrikationen af Drue- og andre Frugtvine, men tillige i Bryggeri- og Brænderidriften. At man i Industrien baade maa og kan foretage et Udvalg, have de foreliggende Undersøgelser paany lært os.

---

for derigjennem at erholde et Overblik over de Kombinationer, som i den Retning gjøre sig gjældende. De andre Spørgsmaal, der hertil sluttede sig, maatte følgelig træde mere i Baggrunden, f. Ex. Undersøgelsen over den Gjæringsenergi, Arterne vise med Hensyn til Frembringelsen af Alkohol. At der dog ogsaa i den Retning iagttoges tydelige Differenser, ses ved at sammenligne de tilsvarende Forsøgsrækker, som bleve anstillede med Sacch. Marxianus og Sacch. exiguus, og endnu tydeligere i de følgende Kapitler. Hvis mit Arbejde imidlertid paa dette Omraade skulde have været fuldstændigt, maatte jeg have anstillet komparative Forsøg med alle Arterne i en og samme Næringsvædske; men dette kunde ikke forenes med Hovedopgaven. Saadanne Undersøgelser ere tilmed i den nyeste Tid blevne udførte af Borgmann (Zur chemischen Charakteristik durch Reinculturen erzeugter Biere. Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie. XXV. Heft IV, p. 532) og Amthor (Studien über reine Hefen. Zeitschr. f. physiolog. Chemie XII, p. 64). Enhver af disse Forskere anvendte i alle Forsøgsrækker Ølurt og bestandig den selv samme. Borgmanns Gjæringer bleve anstillede under Bryggeriforhold, nemlig paa Gl. Carlsberg, Amthors i Kolber i hans Laboratorium. Hovedresultatet var i begge Tilfælde det samme, nemlig at de forskjellige Saccharomyces-Arter ogsaa under de nævnte Forhold udføre et forskjelligt kemisk Arbejde. Særlig interessant vare de Differenser, som traadte frem med Hensyn til Dannelsen af Glycerin. Ogsaa de prøvede Bryggeri-Undergjærarter viste sig i de nævnte Retninger at være tydeligt forskjellige. At Saccharomyceterne under Bryggeriforhold udøve et forskjelligt kemisk Arbejde, eftersom de høre til den ene eller den anden Art, fremgik forøvrigt allerede af mine Undersøgelser over de af dem i Øl fremkaldte Sygdomme (Meddel. fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 2 H., 1883, p. 93 og Zeitschr. f. das ges. Brauwesen, München 1884, p. 273). Rigtigheden af den i sidstnævnte Afhandling opstillede Lære blev bekræftet af Grønlund i en udførlig experimentel Undersøgelse: »Ueber bitteren unangenehmen Beigeschmack des Bieres« (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen, München 1887, p. 469).

De nye Arter ville senere blive nøjere behandlede af mig i en Afhandling om Slægten Saccharomyces Systematik; i denne agter jeg da ogsaa at give de fornødne Afbildninger. Jeg griber her Lejligheden til at meddele et Par oplysende Bemærkninger i Anledning af de Bebrejdelser, der ere blevne rettede imod mig, fordi jeg vedbliver at benytte Reess's systematiske Navne, uagtet jeg jo selv har vist, at der ikke knytter sig nogen bestemt Forestilling dertil, og at overhovedet de Principer, hvorefter Reess byggede sit System, ere uholdbare. Aarsagen hertil er, at jeg ikke ønsker at forøge Registeret med nye Navne, forend det er strængt nødvendigt. Det systematiske Navn bør jo ogsaa efter sit Væsen egentlig ligesom danne Slutstenen for hele Undersøgelsen; men at naa hertil er vanskeligt og tager Tid.

3. Alkoholgjærsvampe med saccharomyceslignende Celler.

Hertil henregner jeg foruden de i Literaturen meget omtalte Mycoderma vini, Mycod. cerevisiæ og Sacch. apiculatus endvidere Gjærceller, hvis svagt gjærende Former nærmest synes at stemme overens med dem, der i Pasteurs Études sur la bière kaldes Torula — for at have en foreløbig Betegnelse for dem har jeg i hvert Fald benyttet dette Navn —, og endelig en Art, der slutter sig til sidstnævnte, nemlig Monilia candida. Det er alle Svampe, som i gjæringsdygtige Vædsker danne Vegetationer, der have stor Lighed med Saccharomyceter og ofte ere blevne sammenblandede dermed, men som skarpt adskille sig fra disse derved, at de mangle Endosporedannelsen. Nogle kunne udvikle et Mycelium og en mere eller mindre fremtrædende Skimmelvegetation, andre derimod ikke.

Mycoderma cerevisiæ.

Det blev foran fremhævet, at denne Arts Celler ere meget udbredte. Saasnart Øl, Vin eller lignende Vædsker udsættes for Luftens direkte Paavirkning, blive de hurtigt bedækkede med en Hinde deraf; dette gjælder endog om Øllet i Bryggeriernes kolde Lagerkjældere. Som bekjendt, har den ogsaa netop erholdt Navnene Mycod. vini og Mycod. cerevisiæ efter den Maade, hvorpaa den optræder. Alkoholgjæring fremkalder den ikke i nogen af de foran nævnte Sukkerarter og ejheller Inversion i Saccharoseopløsninger. Dens fysiologiske Virksomhed fortjener iøvrigt et nøjere Studium, ogsaa er det muligt, at der under de angivne Navne skjules ikke eet, men flere Species.

Sacch. apiculatus

har faaet sit Artsnavn paa Grund af sine smaa citronformede Gjærceller; Slægtnavnet bærer den, som ovenfor berørt, med Urette; den er imidlertid under det her angivne Navn vel kjendt i Literaturen og skal derfor ogsaa beholde det, indtil en Gang et nyt System paa dette Omraade med nogen Sikkerhed kan opbygges. I mine tidligere Afhandlinger[1]) paaviste jeg, at denne Art i Ølurt fremkalder en temmelig svag Alkoholdannelse, nemlig kun c. 1 Vol. %. De Forsøg, jeg den Gang anstillede med Hensyn til Spørgsmaalet, hvorvidt den kan forgjære en Del af Maltosen eller ej, viste nærmest hen til, at der ikke finder en saadan Forgjæring Sted. Ved senere at gjenoptage disse Arbejder, har jeg fundet Bekræftelse paa, at Sagen netop forholder sig saaledes.

Som det erindres fra mine ovenfor nævnte Undersøgelser, formaar den ikke at invertere Saccharose og kan ikke forgjære denne Sukkerart. Naar jeg i Overensstemmelse med den da gjældende kemiske og fysiologiske Anskuelse om Saccharosen heri fandt et nyt Bevis for, at denne Sukkerart ikke er direkte gjæringsdygtig, saa maa det nu siges, at denne Maade at slutte paa ikke er berettiget. Det blev nemlig mig selv forbeholdt nogle Aar efter at opdage en Gjærsvamp, som stiller sig imod den hidtil gjældende fysiologiske Regel paa dette Omraade. (Se Monilia candida p. 240.)

I Opløsninger af 15 og 10 % Dextrose i Gjærvand fremkalder Sacch. apiculatus en temmelig kraftig Gjæring. Efter 15 Døgns Henstand ved c. 25° C. dannede den under disse Forhold henholdsvis 2,8 og 2,6 Vol. % Alkohol, og efter 1½ Maaned lidt over 3 Vol. %, højere steg Alkoholmængden ikke; efter 3 Maaneders Forløb fandtes den nemlig bestandig at være den samme. Ved Forsøgets Slutning gave Vædskerne tydelig Reaktion for Sukker. Sacch. apiculatus har følgelig ikke kunnet føre Gjæringen til Ende. I et andet Forsøg med 10 % Dextrose i Gjærvand fandtes efter 15 Døgn ved 25° C. 3,7 og efter 25 Døgn 4,3 Vol. % Alkohol. Boutroux angiver, at den i Næringsvædsker, bestaaende af 6,4 og 17 % Dextrose i Gjærvand med lidt Vinsyre, gav henholdsvis 3,3 og 5,4 Vol. % Alkohol. Det er tænkeligt, at Tilsætningen af Vinsyre har fremmet Forgjæringen. I min næste Afhandling over

[1]) Emil Chr. Hansen, Ueber Saccharomyces apiculatus. (Hedwigia, 1880, p. 75) og navnlig: Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I B. 1881, p. 313). Nye Undersøgelser over Cellernes Forhold i den frie Natur gav jeg i Botan. Centralblatt, B. XXI. 1885, Nr. 6.

Sukkerarternes Forhold under Alkoholgjæringen vil jeg muligvis komme tilbage hertil.

Om Lactosen blev det i forrige Afsnit en Gang for alle fremhævet, at iblandt de hidtil undersøgte Alkoholgjærsvampe kun en er funden, som formaar at fremkalde Gjæring deri.

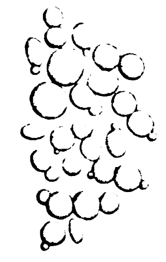
Pasteurs Torula.

Vi gaa derefter over til at betragte den Gruppe af Gjærceller, som vi i Følge ovenstaaende Bemærkninger kalde Torula. I en Afhandling fra 1883 i nærværende Tidsskrift har jeg behandlet 5 Arter deraf. Tre af dem frembragte efter at have været dyrkede endog meget lang Tid i Urt og i andre Sukkeropløsninger kun usikre Spor af Alkohol uden kjendelig Kulsyreudvikling; de kunne altsaa næppe henregnes til Alkoholgjærsvampene; en af disse tre Arter udviklede Invertin, de to derimod ikke. De to øvrige Arter gave i de ovenfor beskrevne Urt-Kulturer c. 1 Vol. °/₀ Alkohol, den ene inverterede Saccharoseopløsninger, den anden ikke.

Det kan her nævnes, at Roux i Pasteurs Laboratorium i 1881 studerede en Gjærsvamp, der vist ogsaa maa henregnes hertil; den fremkaldte tydelig Alkoholgjæring i en Dextroseopløsning, men hverken i Saccharose- eller i Lactoseopløsning, og manglede Invertin. Senere have andre Forskere gjort lignende Iagttagelser; Angivelserne ere imidlertid saa usikre, at man ikke kan se, om de have arbejdet med Renkulturer eller ej, og navnlig er det umuligt at afgjøre, om de have havt de foran omtalte eller helt andre Arter for sig.

Af de Meddelelser, der i det nærmest Foregaaende bleve givne om mine 5 Torula-Arter, fremgaar, at kun to udviklede Invertin, og at næppe nogen af dem forgjærer Maltose; ved direkte Forsøg blev dog kun deres Forhold i Ølurt og i Saccharoseopløsning bestemt, og da jeg efter lang Tids Forløb atter optog disse Experimenter, fandtes de ikke længere her paa Laboratoriet; jeg opsøgte derfor nyt Materiale.

Den første af de to nye Arter, som jeg nedenfor skal beskrive, erholdt jeg tilfældigvis ved Infektion fra Luften. Unge, kraftige Vegetationer deraf, som ere dyrkede paa den foran ofte omtalte Maade i Ølurt, bestaa af kuglerunde og ovale, smaa Gjærceller som hosstaaende Fig 1.


Fig. 1. Bundgjær fra 1 Døgns Kultur i Ølurt ved c. 25° C.

Ligesom alle de øvrige, der omhandles i denne Afdeling af min Afhandling, udviklede de ikke Endosporer.

I Ølurt give de en tydelig Gjæring og indtil 1,8 Vol. % Alkohol.

I Maltoseopløsninger formaa de derimod ikke at fremkalde nogen Gjæring. De invertere Saccharoseopløsning, og i 10 og 15 % Opløsninger i Gjærvand dannede de efter 14 Døgns Kultur ved c. 25° C. henholdsvis 5,1 og 6,8 Vol. % Alkohol. Kulturen med den sidste Vædske blev derpaa stillet hen ved almindelig Stuevarme, hvor den forblev 2 Maaneder; den indeholdt da 7 Vol. %, og alt Sukkeret var forsvundet.

Under lignende Omstændigheder dannede denne Art i Opløsninger, bestaaende af Gjærvand med 10 og 15 % Dextrose, efter 15 Døgn i det førstnævnte Tilfælde 6,5 og i det sidstnævnte 8,8 Vol. % Alkohol. Da de samme Kulturer havde staaet 2 Maaneder ialt ved den angivne Temperatur, indeholdt den førstnævnte 6,6 og den sidstnævnte 8,5 Vol. % Alkohol. Gjæringsvirksomheden var følgelig kraftigere i Dextrose- end i de tilsvarende Saccharoseopløsninger.



Fig. 2. Bundgjær fra 1 Døgns Kultur i Ølurt ved c. 25° C.

Den anden nye Art fandt jeg i Jord under Vinranker paa et Bjerg ved Rhinen i Forsommeren 1885. Ovenstaaende Fig. 2 viser os dens Celler fra lignende Kulturer som foregaaende Arts. De ere i Modsætning til dennes hyppigere ovale og mange ere betydelig større.

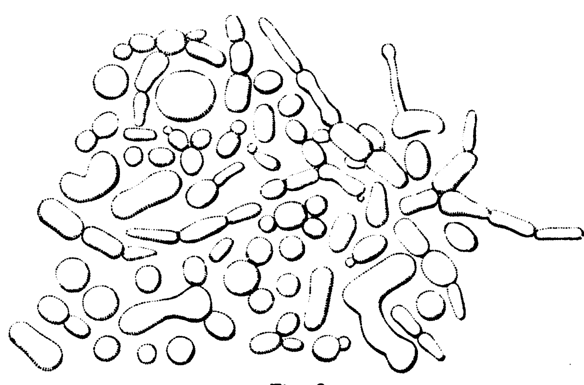


Fig. 3.

Som et Exempel paa Hindedannelsen hos Torula-Gjærceller afbildes her tillige Vegetationen fra en Hinde i en 10 Maaneders gammel Urt-Kultur af nærværende Art (Fig. 3). Det ses, at Cellerne deri, sammenlignede med Fig. 2, hyppig ere større, uregelmæssige og langstrakt pølsedannede, Kjendetegn, der ogsaa ere almindelige for lignende gamle Hindedannelser hos Saccharomyceterne.

Den her omhandlede Ikke-Saccharomycet giver i Ølurt kun 1 Vol. % Alkohol. I Maltose fremkalder den ingen Gjæring; det Samme gjælder om Saccharosen, som den ejheller formaar at invertere.

I 10 og 15 % Dextrose i Gjærvand udviklede den efter 15 Døgns Henstand ved c. 25° C. henholdsvis 4,6 og 4,5 Vol. % Alkohol. Efterat vedkommende Kulturer havde staaet 28 Døgn ialt ved den nævnte Temperatur, fandtes i den førstnævnte 4,8 og i den sidstnævnte 4,7 Vol. % Alkohol. To andre, men ellers lignende Kulturer, som stode betydeligt længere, forinden Undersøgelsen fandt Sted, indeholdt tilsidst i Kolben med 10 % Dextrose 4,8 og i Kolben med 15 % Dextrose 5,3 Vol. % Alkohol; Vædsken i førstnævnte Kolbe gav da kun meget svag Reduktion af Fehlings Reagens, Vædsken i sidstnævnte derimod en stærk Reduktion. I denne var der følgelig en kjendelig Sukkerrest tilbage, men ved fortsat Henstand viste det sig, at Forgjæringen ikke gik videre.

I fysiologisk Henseende adskiller denne Art sig altsaa fra den foregaaende ikke blot derved, at den mangler Invertin, men tillige derved, at den i de beskrevne Dextroseopløsninger udfolder en svagere Gjæringsvirksomhed.

Som ovenfor anført, fandt jeg den i Jord under Vinranker. Der er saaledes megen Udsigt til, at den med Støvet i tørre Perioder kan komme op paa Druerne, og naar Mosten presses af disse, vil den da ogsaa komme til at tage Del i Vingjæringen. Det er overhovedet ikke usandsynligt, at Arter, der som denne og den nærmest foregaaende, fremkalde en kraftig Alkoholgjæring i Dextroseopløsning, ogsaa spille en vigtig Rolle i Vin- og anden Frugtgjæring. I Bryggerierne og Brænderierne kunne de derimod næppe antages at have nogen stor Indflydelse, da de, som det erindres, ikke formaa at forgjære Maltosen, den Sukkerart, der er saa fremtrædende i Ølurten og i Mæsken.

Meget almindelig udbredte i Naturen ere de Torula-Former, der mangle Invertin, og som i Ølurt-Kulturer kun give c. 1 Vol. % Alkohol og i Overensstemmelse dermed slet ikke forgjære Maltose;

saavidt Undersøgelserne gaa, fremkalde disse Arter dog en mere eller mindre kraftig Gjæring i Dextroseopløsninger.

Hos de foran behandlede Svampe med saccharomyceslignende Celler har jeg kun iagttaget Mycelieudvikling hos een, nemlig hos en af de først omtalte fem Torula-Arter.

Vi skulle derefter gaa over til Undersøgelsen af en Skimmelsvamp, som jeg har betegnet med det systematiske Navn

Monilia candida.

Om denne i fysiologisk Henseende mærkværdige Art gav jeg i 1883 lejlighedsvis nogle Meddelelser i Fasbenders zymotekniske Tidsskrift og senere i Berichte der deutschen botan. Gesellschaft (1884) samt i min Afhandling om Hindedannelsen hos Slægten Saccharomyces (nærværende Tidsskrifts II B. 1886, p. 170). I Løbet af de sidste fem Aar har jeg foretaget meget omfattende Experimenter med den, og idet jeg nu, idetmindste foreløbig, afslutter disse, er det min Agt at give en samlet Fremstilling af de vundne Resultater.

Monilia candida optræder i Naturen i frisk Kogjødning og i Sprækker og Revner paa søde, saftige Frugter. Naar den dyrkes i Ølurt eller andre sukkerholdige Næringsvædsker, f. Ex. Dextrose- og Saccharoseopløsninger med Tilsætning af Gjærvand, udvikler den i kort Tid allerede ved almindelig Stuevarme en kraftig Vegetation af saccharomyceslignende Celler, som man efter det mikroskopiske Billede nærmest kunde bestemme som Reess's Sacch. ellipsoideus eller Sacch. cerevisiæ. Se Fig. 4.

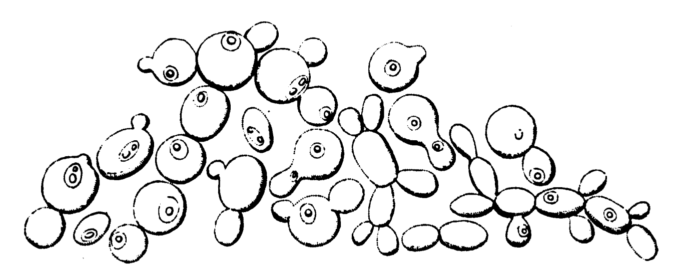
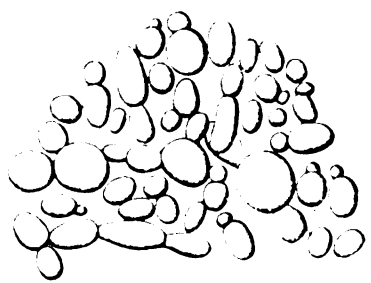


Fig. 4.

Vakuoler, hver med et eller to stærkt lysbrydende Smaalegemer, ere hyppige, og disse Smaalegemer ses i Almindelighed at være i en tumlende Bevægelse.

Den fremkalder i de nævnte Vædsker en temmelig stærk Alkoholgjæring med Overgjæringsfænomener, og medens Kulsyreudviklingen endnu er i kraftig Gang, og Skumblærer stige op, danner den

allerede paa disse en matgraa Hinde, der hurtigt strækker sig over hele Overfladen og opad Kolbens Sider, hvori Vædsken findes. I Fig. 5 ses Cellerne i en saadan ung Hindedannelse. Flere af dem have begyndt at strække sig, og mange have kun en ringe Størrelse; vi finde her ikke blot Former, der ligne Sacch. cerevisiæ og Sacch. ellipsoideus, men tillige saadanne, som have Lighed med Sacch. Pastorianus og Sacch. exiguus. De ovenfor omtalte glindsende Smaalegemer ere hverken indtegnede i denne eller i den efterfølgende Figurgruppe.


Fig. 5.

Lader man en saadan Kultur henstaa en Tidlang, saa udvikler der sig mere langstrakte Celler og tilsidst et fuldstændigt Mycelium, en hvidmelet, lidt laaden Skimmelvegetation, der afsnører Gjærcelle-Konidier eller deler sig i Led ligesom Oidium-Arterne (Fig. 6).

Ogsaa paa fast Næringssubstrat (Kartoffelskiver, Brød med og uden Næringsvædsker, Kirsebær, Ko- og Hestegjødning, Gelatine med Tilsætning af Extrakter af Æbler, Vindruer, grønne Blade af Kartoffelplanter og Kogjødning) fremkom de nævnte Vegetationer; men uagtet Dyrkningsforholdene bleve varierede i høj Grad og fortsatte aarvis, iagttoges aldrig nogen anden.

Vegetationerne ere i alle Tilfælde graaladne, oftest lyse, paa Brødet i Almindelighed gulgraa, paa Kirsebærrene rødgraa. Det blev ovenfor meddelt, at denne Art i den frie Natur findes i Kogjødning; nogen kraftig Udvikling her giver den imidlertid næppe, sikkert er det i hvert Fald, at den i Extrakter af saavel Ko- som Hestegjødning kun gav en sparsom Vegetation.

Ved at foretage Dyrkningen i Ranviers fugtige Kamre med Ølurt som Næringsvædske iagttog jeg, at Gjærcellerne under disse Dyrkningsforhold i Begyndelsen udelukkende formerede sig ved Knopskydning og først, efterat denne en Tidlang havde fundet Sted, dannede Spiretraade og Mycel; dette udviklede tilsidst saccharomyceslignende Knopper enkeltvis eller i Kolonier, som ovenstaaende Figurer vise. I Hovedtrækkene iagttog jeg den samme Udviklingsgang i mine Massekulturer i Ølurt og i Sukkeropløsning i Gjærvand, og den stemmer vistnok ogsaa overens med, hvad der overhovedet er almindeligt hos saadanne Svampe.

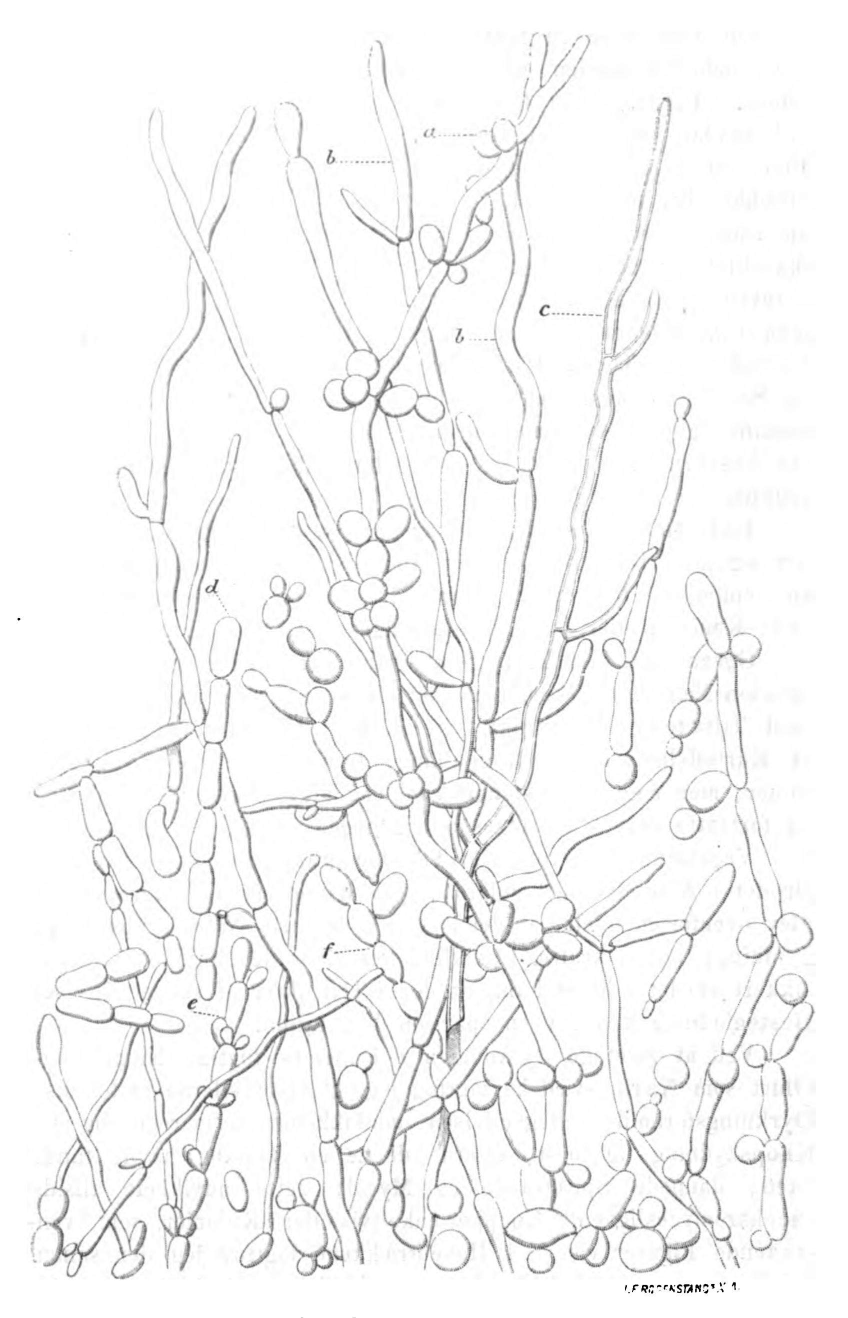


Fig. 6. Skimmelvegetationen af Monilia candida.

Former som *a* ere hyppige; de bestaa af Kjæder af langstrakte, mere eller mindre traadformede Celler, som indbyrdes ere temmelig løst forbundne; ved hver

I sin Skimmelvegetation slutter den sig idetmindste i flere Tilfælde temmelig nøje til Bonordens Beskrivelse og Afbildning af hans Monilia candida. Jeg valgte derfor dette systematiske Navn til min Art. Det er imidlertid her som i Almindelighed, naar Talen er om ældre Forfatteres Beskrivelser af Mikroorganismer, umuligt med Sikkerhed at afgjøre, hvilke Species dermed menes. De Former, hvormed vor Art optræder, ere tilmed kun lidet karakteristiske, og de ere fælles for talrige, ellers indbyrdes forskjellige Svampe. Det er derfor ogsaa let forstaaeligt, at man i Svampeherbarierne under dette Navn finder forskjellige Arter. Man kommer naturligvis ejheller Spørgsmaalets Løsning nærmere ved netop at søge Svampen paa det af Bonorden opgivne Voxested, raaddent Træ.

Min Meddelelse i 1884 henledte strax flere Forskeres Opmærksomhed paa denne Art, og i Løbet af kort Tid fremkom en Række Afhandlinger om dens Optræden i Naturen og dens Betydning. Det blev saaledes angivet, at den skal være almindelig i Bærme fra Brænderier, i Mask fra Bryggerier og i Hornkvægs Exkrementer (Bräutigam), i Agerjord (Adametz), i Faaregjødning og i neutral Mavesaft (List), i diarrhoeagtige Udtømmelser hos diende Børn (Eschrich), i Trøske hos Børn, unge Pattedyr og Fugle (Baginsky, Eschrich og Plaut). I sidstnævnte Forfatters fornylig udkomne Afhandling[1]) findes hele denne Literatur.

Medens Plaut i et tidligere Arbejde antog, at hans Trøskesvamp var identisk med min Monilia, er han nu kommen til det

---

[1]) Plaut, Neue Beiträge zur systemat. Stellung des Soorpilzes in der Botanik. Leipzig 1887.

Leddeling findes oftest en Krands af ovale Gjærceller, som let falde af. I *b* ses en anden hyppig Form, men som adskiller sig fra den førstnævnte derved, at den mangler de krandsstillede Gjærceller; i Stedet derfor udsendes i Reglen fra hver Leddeling en lignende, men kortere Gren end den, der danner Moderstammen. Leddene i disse Kjæder ere ikke sjelden indbyrdes nøje forbundne, Indsnøringerne forsvinde i mange Tilfælde, og et aldeles typisk Mycelium med tydelige Tverskillevægge opstaar da (*c*). Formerne *b* og *c* findes inde i vedkommende Næringssubstrat, *a* i Almindelighed paa Overfladen. Former som *d* ligne meget Oidium lactis. I *e* ses en Kjæde af pæreformede Celler med Krandse af Gjærceller, der have Lighed med Sacch. exiguus. Den i *f* afbildede Kjæde af citronformede Celler stemmer nøje overens med Ehrenbergs Afbildning af Oidium fructigenum (De Mycetogenesi Tab. X). Imellem de saaledes beskrevne Hovedformer findes talrige Gjærceller af forskjellig Form og i Kolonier med forskjellig Gruppering. Som sædvanlig opstaa da ogsaa Former som Sacch. conglomeratus Reess.

modsatte Resultat. Han har nemlig iagttaget, at den af mig beskrevne Art vel fremkalder en svag Mycelieudvikling i Øjets Glaslegeme, men ingen Trøskedannelse i Kroens Slimhinde hos Duer. Ogsaa i Gelatinekulturer viste den nogen Differens fra den eller de Svampe, der virkelig fremkalde den berørte Sygdom.

Det er højst sandsynligt, at de ovenfor nævnte Forfattere have arbejdet med en hel Række forskjellige Arter, og det maa da her atter fremhæves, at den morfologiske Undersøgelse ikke sætter os i Stand til at skjelne imellem dem. Den af mig behandlede er, som det Følgende viser, tydeligt karakteriseret ved sine fysiologiske Ejendommeligheder, og det er derfor ogsaa paa disse, at Hovedvægten idetmindste for Øjeblikket maa lægges.

Under Forhold, hvor Sacch. cerevisiæ (Ølundergjær) dannede 6 Vol. % Alkohol, gav Monilia candida næppe $1^1/_2$; men blev Gjæringen fortsat i længere Tid, saa tog ogsaa Alkoholmængden til. Af de Forsøgsrækker, som i den Anledning bleve anstillede, meddeles nedenfor en:

Tre tohalsede Liter-Kolber (Pasteurs Model) bleve fyldte $^3/_4$ med den saa ofte omtalte steriliserede Ølurt og derpaa hver inficerede med 3 Kub-Centim. temmelig tyk flydende Gjær af unge, kraftige Celler; i den ene Kolbe anbragtes Bryggeriovergjær, i den anden Bryggeriundergjær, og i den tredie Monilia candida. Alle Kulturerne vare selvfølgelig absolut rene, og det Hele saavidt muligt indrettet saaledes, at de tre Kolber kun kom til at adskille sig fra hverandre ved den forskjellige Infektion. Forsøgene udførtes ved almindelig Stuevarme.

Efter 16 Døgn	gav Kolben	med	Bryggeriovergjær	6	Vol.	%
—	—	-	Bryggeriundergjær	6	-	-
—	—	-	Monilia candida	1,1	-	-

Efter 67 Dage indeholdt Kolberne med de to førstnævnte Gjærarter atter c. 6 Vol. %, Kolben med Monilia candida derimod 2 Vol. %. De to Bryggerigjærarter havde følgelig allerede efter 16 Døgn naaet deres Maximum; dette blev ogsaa bekræftet, da jeg efter 4 Maaneder foretog en ny Undersøgelse.

Paa dette Tidspunkt havde Monilia candida imidlertid endnu kun givet 3,4 Vol. %

efter	6	Maaneder	gav	den	5	Vol.	%
-	$9^1/_2$	—	-	-	6,5	-	-
-	26	—	-	-	6,7	-	-

Hermed var Maximum naaet, thi det viste sig, at Cellerne vare døde, da den sidste Undersøgelse blev foretagen. Øllet havde en stærkt krydret og aromatisk Lugt og reducerede endnu Fehlings Vædske; i en anden lignende Forsøgsrække var Sukkeret dog forsvundet efter lidt over 1 Aars Henstand, Vædsken indeholdt da 6,6 Vol. % Alkohol.

Ved direkte Prøve fandt jeg, at Monilia candida var levende efter at have tilbragt et Aar under de beskrevne Forhold, Bryggeriovergjæren var derimod død efter 10 Maaneders Forløb, hvorledes Bryggeriundergjæren i den nævnte Retning forholdt sig, blev ikke undersøgt.

Resultatet af de foran beskrevne og andre lignende Undersøgelser, som jeg har anstillet, er, at Monilia candida i Modsætning til, hvad der i Almindelighed finder Sted hos Saccharomyceterne, under de beskrevne Forhold kun meget langsomt naar de højere Alkoholprocenter. I denne Henseende stemmer den overens med flere Mucorineer, se p. 245.

Aarsagen til den foran omtalte langsomme Forgjæring maa tildels søges deri, at Forsøget blev anstillet ved en forholdsvis lav Temperatur; vælge vi en højere, f. Ex. 25° C, bliver i hvert Fald Resultatet et andet, Gjæringsenergien voxer da i høj Grad. Efterstaaende to Forsøgsrækker vise dette.

To Kolber, hvoraf den ene indeholdt Ølurt, og den anden en Gjærvandsopløsning med 10 % Dextrose, bleve inficerede med unge, kraftige Celler, Forsøgstemperaturen var 25° C.

Efter 7 Døgn fandtes i Urt-Kolben	2,4	Vol. %	Alkohol,
og i Kolben med Dextrose og Gjærvand	3,8	- -	—

Al Vædsken blev derpaa tømt ud, og til de betydelige Gjærbundfald, der fandtes i begge Kolber, blev der sat nye Portioner af de samme Vædsker, hvormed Gjæringerne begyndte; i dette Tilfælde indeholdt dog Gjærvandsopløsningen 15 % Dextrose.

14 Døgn derefter fandtes i Urt-Kolben	4	Vol. %	Alkohol,
og i Kolben med Dextrose og Gjærvand	5,5	- -	—

Grunden til, at Kolben med Dextrose bestandig gav en rigeligere Alkoholmængde end den anden, kan vistnok søges deri, at Dextrosen lettere forgjæres end Maltosen. Om disse to Sukkerarters indbyrdes Forhold under Gjæringen vil jeg forøvrigt i en anden Afhandling give nøjere Oplysninger.

Af ovenstaaende Forsøg følger, at denne Art maa høre til dem, der forgjære Maltose; direkte Experimenter vise ogsaa dette. I en Opløsning af c. 5 % Maltose i Gjærvand fremkaldte den

f. Ex. efter faa Døgns Henstand ved 20° C. en livlig Gjæring, og efter 42 Døgn var alt Sukkeret forsvundet, medens Vædsken nu indeholdt 2,6 Vol. % Alkohol. Et Forsøg, som blev anstillet paa den samme Maade, men med ren Maltoseopløsning i Vand, gav derimod ingen Gjæringstegn og ingen Draabereaktion; der havde følgelig ikke fundet nogen Alkoholgjæring Sted. Refraktometeret viste dog, at en lille Del af Sukkeret var forsvunden, og Vædsken reagerede surt; jeg er derfor tilbøjelig til at antage, at den forsvundne Del af Maltosen udelukkende er bleven benyttet til Cellernes Formering og Ernæring. Da der derefter blev sat lidt Gjærvand til, og vedkommende Kolbe blev stillet ind i Thermostaten ved 25° C., kom der heri temmelig stærk Gjæring, hvorved alt Sukkeret blev opbrugt. Vædsken gav nu ogsaa tydelig Reaktion for Alkohol.

Det synes altsaa, at Monilia candida vel formaar at formere sig i en ren Maltoseopløsning, men derimod ikke at fremkalde Gjæring deri, og at den først ved at erholde de nødvendige Kvælstofforbindelser og Næringssalte bliver i Stand dertil. En Forgjæring af Maltose stiller større Krav til Cellerne end en Forgjæring af Glykose, og de maa derfor, hvis de skulle kunne udføre Arbejdet, i førstnævnte Tilfælde have gunstigere Ernæringsvilkaar end i sidstnævnte. Som det erindres, blev navnlig for nogle Aar siden det Spørgsmaal hyppig drøftet, om Maltosen er direkte gjæringsdygtig eller ej. Monilia candida giver os et nyt Bidrag til dets Løsning, vi have nemlig i den en Gjærsvamp, som, uagtet den mangler inverterende Fermenter, dog i Følge Ovenstaaende kan fremkalde en temmelig kraftig, om end langsom Alkoholgjæring i Maltoseopløsninger. Heraf følger, at en foregaaende Omdannelse af denne Sukkerart til Druesukker i hvert Fald ikke er nødvendig, for at den skal kunne blive underkastet en Alkoholgjæring.

Vi ere hermed komne til det interessanteste Punkt i denne Alkoholgjærsvamps Livshistorie: Skjøndt den, som anført, mangler det kemisk opløselige Ferment, Invertin, forgjærer den dog Saccharosen. Hidtil blev ellers i den moderne Kemi og Fysiologi Saccharosen henført til de ikke direkte gjæringsdygtige Sukkerarter.

Mine Forsøg i denne Retning anstillede jeg med Renkulturer i de tohalsede Kolber med steriliserede Opløsninger af Rørsukker (10 og 15 %), dels med dels uden Kvælstofforbindelser og Næringssalte. I det sidste Tilfælde var Udviklingen af Gjæringsskum temmelig svag, i det første derimod meget kraftig. Paa forskjel-

lige Stadier under Gjæringen blev der udtaget Prøver til kemiske Undersøgelser; herved blev der bestandig paavist, at den tilstedeværende Sukkerrest vedblev at være Saccharose; af Invertsukker fandtes intet Spor. I Overensstemmelse hermed var der ej heller Invertin tilstede hverken i Vand- eller Glycerin-Udtræk af Gjæren. Vi have altsaa virkelig for os en Alkoholgjærsvamp, som er i Stand til at forgjære Saccharose direkte uden foregaaende Inversion, og heraf følger da tillige, at denne Sukkerart under visse Omstændigheder er direkte gjæringsdygtig.

Af de Forsøg, som til forskjellig Tid bleve anstillede i den Retning, meddeles følgende:

En tohalset Kolbe med en 10 % Opløsning blev inficeret med rigelig Gjær, mellem hvis Celler fandtes lidt af den Næringsvædske, hvori de vare avlede.

Efter	20	Døgns Forløb	var der	dannet	0,7	Vol.	%	Alkohol,
—	2	Maaneder	—	—	1,35	-	-	—
—	4	—	—	—	2,25	-	-	—
—	6	—	—	—	3	-	-	—
—	8	—	—	—	3,7	-	-	—
—	12	—	—	—	4,5	-	-	—
—	27	—	—	—	4,9	-	-	—

Den gjærende Vædske blev endvidere prøvet med Lakmospapir, med Fehlings Reagens og i et Polarisationsapparat efter 20 Døgns og efter 8, 12 og 27 Maaneders Henstand. Den reagerede stedse surt, men reducerede ikke, og den drejede bestandig Polarisationsplanet til Højre; kogtes den derimod først med svag Saltsyre, saa fremkaldte den en stærk Udskilning af rødt Kobberforilte. Heraf maa sluttes, at der idelig var en Rest af Saccharose tilbage, og at den under Gjæringen dannede Syre ikke har kunnet invertere denne. Ved den anstillede Prøve viste det sig, at Cellerne i den 27 Maaneder gamle Kultur vare levende.

I et andet Forsøg anvendtes en 15 % Rørsukkeropløsning, og Gjærcellerne, som anbragtes heri, vare i Forvejen meget nøje udvaskede med steriliseret Vand for at fjerne den tilstedeværende Næringsvædske.

Efter	4	Maaneder	fandtes	1,1	Vol.	%	Alkohol,
—	12	—	—	2,7	-	-	—
—	16	—	—	2,8	-	-	—

Ogsaa i dette Tilfælde blev det afgjort, at der under hele Forsøget ingen Inversion fandt Sted. Begge Forsøgene bleve anstillede ved almindelig Stuevarme.

Den Mulighed foreligger naturligvis, at Rørsukkeret i Cellernes Indre kan blive omdannet til Invertsukker, og at dette derefter strax opbruges. Jeg har imidlertid forgjæves søgt derefter; men selv om saadant dog skulde være Tilfældet, saa bliver Resultatet i hvert Fald dette, at denne Gjærsvamp i den nævnte Retning forholder sig paa en anden Maade end alle de andre hidtil undersøgte. Ogsaa det Spørgsmaal stillede jeg mig, om dens Mangel paa Evne til at udvikle Invertin skulde være begrændset til et bestemt Udviklingsstadium hos den. Mine Forsøg viste imidlertid, at den hverken som Gjærcelle eller som Skimmelsvamp med Mycelieudvikling inverterede Opløsninger af Rørsukker.

Naar den i længere Tid dyrkes ved høje Temperaturer, f. Ex. i Nærheden af 40° C., er den meget tilbøjelig til, især under ugunstige Ernæringsforhold, at frembringe en rig Syredannelse. Er der i disse Tilfælde Saccharose i Vædsken, saa vil en større eller mindre Del deraf kunne blive inverteret, men dette har naturligvis Intet at gjøre med Invertinudsondring. Som Exempel kan her anføres nedenstaaende Forsøgsrække:

En Renkultur af unge, kraftige Celler blev i rigelig Mængde overført i to tohalsede Kolber, hvoraf den ene kun indeholdt en Rørsukkeropløsning, den anden tillige lidt Gjærvand. Med Undtagelse af denne Forskjel i Næringsvædskens Sammensætning vare begge Kulturerne ens. De bleve stillede ind i Thermostaten ved 35—36° C. Efter 2 Døgns Henstand var der i begge dannet et rigeligt Gjærbundfald, og paa begge Vædskers Overflade fandtes stærkt udviklet Gjæringsskum. De reagerede surt paa Lakmospapir, men reducerede ikke Fehlings Vædske. Forsøget fortsattes, og da Kolberne havde staaet 5 Døgn ved den nævnte høje Temperatur, syntes Gjæringen hovedsagelig at være standset. Kolben, hvori der foruden Saccharosen ogsaa fandtes Gjærvand, forholdt sig som sidst, Vædsken fremviste intet Spor af Inversion; i den anden Kolbe, hvor Cellerne havde befundet sig under de ugunstige Ernæringsforhold, fandtes derimod nu en Antydning deraf. Efter Kogning med svag Saltsyre gave begge Vædsker en meget stærk Reduktion af Fehlings Reagens, et Tegn paa, at der fremdeles var rigelig Saccharose tilstede.

Vædskerne fra de i det Foregaaende omtalte Gjæringsforsøg bleve til forskjellig Tid ogsaa underkastede en kemisk Undersøgelse i andre end de allerede beskrevne Retninger. Herved blev det fastslaaet, at den under Gjæringen udviklede Luftart i alle Tilfælde var Kulsyre, og at Destillatet bestandig gav Reaktion for Æthylalkohol. Det havde Lugt deraf og

gav ved Antænding den sædvanlige Vinaandflamme; opvarmet med stærk Svovlsyre og krystalliseret eddikesurt Natron blev det omdannet til Eddikeæther, og ved Opvarming med en Blanding af chromsurt Kali og fortyndet Svovlsyre blev det iltet til Aldehyd; den sidstnævnte Omdannelse fandt ligeledes Sted under Paavirkning af Platinsort.

For at bestemme, hvilket Kogepunkt og hvilken Vægtfylde Destillatet i vandfri Tilstand maatte have, bleve 30 Liter-Kolber, hvori fandtes en Opløsning af 10 % Saccharose i Gjærvand, inficerede med en ung, kraftig Vegetation og derpaa henstillede ved almindelig Stuevarme. Efter 27 Døgn fandtes der ikke længere makroskopiske Tegn til Gjæring; der havde udviklet sig en Hinde og et rigeligt Gjærbundfald i alle Kolberne. Vædsken indeholdt 2 Vol. % Alkohol og var uden Inversion; den tilbageblevne Sukkerrest var Saccharose. Allerede heraf kunde sluttes, at Vegetationen fremdeles var en fuldstændig Renkultur, og i samme Retning gik ligeledes den mikroskopiske Prøve. Ved gjentagne Destillationer med vandbindende Midler erholdtes tilsidst et vandfrit Destillat, der viste alle de foran berørte Reaktioner, og hvis Brydningsindex var 1,361, Kogepunkt 79° C., Vægtfylde ved 17,5° C. 0,795, altsaa kun kunde bestemmes som Æthylalkohol.

De Biprodukter, der navnlig under en langvarig Eftergjæring træde frem, ere hidtil ikke blevne undersøgte saaledes, at jeg kan sige noget Bestemt derom.

Da denne Art, som jeg nu ved talrige Forsøg har paavist, forgjærer Saccharose uden foregaaende Inversion, og i Næringsvædsker, hvori der ikke findes andre Sukkerarter end denne, formerer sig kraftigt, ligger det nær at antage, at den ogsaa benytter Saccharosen som saadan til Opbygning af sine Celler, og at altsaa denne Sukkerart under de her givne Forhold ikke blot er direkte gjæringsdygtig, men tillige direkte kan assimileres.

Monilia candida udmærker sig fremfor flere andre Alkoholgjærsvampe ved sin Evne til at taale Indvirkningen af høje Temperaturer. I Ølurt og i en Blanding af Rørsukker og Gjærvand udviklede den sig f. Ex. kraftig og fremkaldte livlig Gjæring ved 40° C., og efter at være bleven indtørret ved 42° C. i Løbet af 1—2 Døgn, saa at Gjærmassen i en Morter kunde stødes til et fint Pulver, vare dog flere af Cellerne endnu levende.

Skjøndt den er en kraftig hindedannende Form, formaar den dog ikke saaledes som Mycod. cerevisiæ at udvikle sig i spirituøse Vædsker; Udsæd i undergjæret Øl gav nemlig aldrig en fuldstændig Hindedannelse, og Udviklingen var overhovedet meget

ringe. Naar Forsøget anstilledes ved Temperaturer mellem 24 og 35° C. og saaledes, at en Infektion fra Luften kunde finde Sted, blev den derfor ogsaa hurtig overvældet af Eddikesyrebakterier og af Mycoderma cerevisiæ.

Resultater.

Hermed ere vi komne til Slutningen af denne Gruppe af saccharomyceslignende Svampe uden Endosporer. Kun faa af Arterne kunne i Gjæringsvirksomhed maale sig med de ægte Saccharomyceter, og ingen, naar Talen er om at forgjære Maltose. Iblandt de 10 undersøgte fandtes overhovedet kun een (Monilia candida), som fremkaldte Gjæring i Opløsninger af denne Sukkerart. Det var ligeledes almindeligt at træffe Arter, som slet ikke formaa at fremkalde Alkoholgjæring; Saccharomyceterne stille sig, som det erindres, anderledes, idet der iblandt dem kun fandtes een (Sacch. membranæfaciens), som mangler denne Evne, og i den store Gruppe af de øvrige kun faa (Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus og nogle faa andre), som ikke kunne forgjære Maltose.

Medens i den sidstnævnte artrige Slægt Mangelen paa Evne til at fremkalde Alkoholgjæring faldt sammen med Mangelen af Invertin og kun iagttoges hos den netop nævnte Sacch. membranæfaciens, var det derimod hyppigt hos de undersøgte Ikke-Saccharomyceter at finde Arter, som mangle Invertin, og som desuagtet fremkalde Gjæring. Iblandt disse formaar dog kun Monilia candida at forgjære Saccharosen som saadan; dette var overhovedet den mærkeligste Iagttagelse, der blev gjort. Fæste vi Blikket paa de to Funktioner, Invertinudsondring og Gjæring, saa se vi, at alle mulige Kombinationer finde Sted i denne Afdeling; der findes Arter, som mangle begge Funktionerne, Arter, hos hvilke begge findes, og endelig Arter, hos hvilke den ene findes og den anden fattes.

Medens det store Flertal af Saccharomyceter spiller en fremragende Rolle i Industrien, har denne Gruppe af Ikke-Saccharomyceter derimod i den Henseende en meget ringere Betydning. De talrige Arter med svag Gjæringsevne kunne under disse Omstændigheder overhovedet næppe komme i Betragtning, og da der kun iagttoges en, nemlig Monilia candida, med Evne til at forgjære Maltose, og tilmed uden særlig Kraft i den Retning, saa maa de anses for at være uden praktisk Betydning i Bryggeri-

og Brænderidriften. Fra de aabne Svalebakker i Bryggerierne komme de til alle Aarets Tider hyppig med Urten i Gjærkarrene og kunne her efterhaanden optræde i kjendelig Mængde, men en skadelig Indgriben af dem er ikke paavist.

Som alle de hidtil undersøgte Alkoholgjærsvampe angribe de af Arterne, der overhovedet besidde Gjæringsevne, med Lethed Dextrose- og Invertsukkeropløsninger; det er derfor meget sandsynligt, at idetmindste nogle tage en mere eller mindre fremragende Del i Gjæringen af Drue- og anden Frugtvin.

I denne Gruppe fandtes endnu flere Exempler end i foregaaende paa det Forhold, at Arter, som i morfologisk Henseende ikke kunne skjelnes fra hverandre, dog kunne vise sig helt forskjellige i deres Forhold til Sukkerarterne, saa at de netop derved blive skarpt karakteriserede.

Alle optraadte med Gjærcelle-Vegetation, kun nogle faa tillige som Skimmelsvampe med et fuldstændigt Mycel. Som bekjendt, findes der i Naturen en stor Række Svampe, henhørende til Systemets forskjellige Afdelinger, der under visse Dyrkningsforhold kunne udvikle saccharomyceslignende Celler (ɔ: Celler, som i Næringsvædsker formere sig ved Knopskydning i Lighed med de ægte Saccharomyceter, men som mangle Endosporedannelsen). De Bary har allerede i 1864 paavist saadanne hos Exoascus og i 1866 hos Dematium; morfologiske Beskrivelser i samme Retning findes hos Bail og Reess og i den nyere Literatur temmelig hyppig, navnlig i Zopfs Afhandling om Fumago og i Brefelds om Brandsvampene. At der i intet af disse Tilfælde er Tale om Saccharomyces, er fremhævet. Det kan nu godt tænkes, at de af mig under Navn af Sacch. apiculatus, Pasteurs Torula og Monilia candida behandlede Arter ogsaa kun ere Udviklingsformer af højere Svampe; for Øjeblikket mangle imidlertid Beviserne herfor, og omvendt foreligger ogsaa den Mulighed, at de ere selvstændige Arter, som ikke optræde med andre end de af mig beskrevne Former.

4. Mucor.

Naar man foretager indgaaende Studier af de talrige til denne Slægt hørende Arter, viser det sig ikke blot, at kun et mindre Antal deraf hidtil ere blevne undersøgte, men tillige, at de foreliggende Beskrivelser som oftest ere utilstrækkelige til med Sikkerhed at afgjøre, om en given Form er beskreven eller ej; endog om de i Literaturen saa hyppig omtalte Arter, Mucor Mucedo og Mucor racemosus hersker der stor Uklarhed.

Mucor - Arterne ere som bekjendt meget udbredte Skimmelsvampe, der fra gammel Tid af ere berømte for deres Gjæringsvirksomhed, og de have derfor bestandig frembudt stor Interesse for Gjæringsfysiologien. Det er ogsaa særlig i den Retning, at mine efterfølgende Studier gaa; de ere udførte efter samme Plan som de foregaaende.

Mucor erectus Bainier.

Under dette Navn modtog jeg fra Dr. Eidam i sin Tid en Skimmelsvamp, der temmelig nøje stemmer overens med de systematiske Beskrivelser af Mucor racemosus, og som vistnok ogsaa hører til de Arter, der ere blevne blandede sammen dermed. Eidam fandt den paa raadne Kartofler i Juli i sit Laboratorium. Den findes beskreven i Annales des sciences naturelles, Botanique 1884, og i III Bind af Kryptogamen-Flora von Schlesien.

Mucor erectus hører til Slægtens kraftige Alkoholgjærsvampe, i en vis Henseende overgaar den endog almindelig Bryggeriundergjær. I Kulturer i Ølurt, som bleve anstillede ved almindelig Stuevarme, gav den

efter 14	Døgn	1,7 Vol. %	Alkohol,
— 1½	Maaneder	6 - -	—
— 2½	—	8 - -	—

Lignende Kulturer gave ved 25° C.

efter 14	Døgn	1,8 Vol. %	Alkohol,
— 1½	Maaneder	5,8 - -	—
— 2½	—	7 - -	—

I Modsætning til, hvad vi iagttoge hos Monilia candida, har den højere Temperatur altsaa ikke forøget Gjæringsenergien hos denne Art.

Som man ifølge Ovenstaaende kunde vente, fremkaldte den ogsaa Alkoholgjæring i Maltoseopløsninger, i Saccharoseopløsninger derimod ikke, og den inverterede ejheller disse.

I en Opløsning af 10 % Dextrose i Gjærvand gav den ved 25° C.

efter 4	Døgn	1,8 Vol. %	Alkohol,
— 15	—	3,5 - -	—

Den hører til de Svampe, som i særlig Grad udmærke sig ved at kunne fremkalde Alkoholgjæring i Dextrinopløsninger, og den formaar tillige at omdanne Stivelse til reducerende Sukker.

Mine Undersøgelser over disse Forhold ville blive meddelte i en senere Afhandling.

Hverken denne eller nogen anden af de undersøgte Mucorineer formaar at forgjære Lactose.

Mucor spinosus van Tiegh.

Med dette Navn betegner van Tieghem en Mucor, hvis Columella er besat med tornformede, ofte uregelmæssige Udbygninger.

Materialet til mine Undersøgelser blev mig for nogle Aar siden godhedsfuldt leveret af Hr. Dr. med. F. Rasmussen. Senere optraadte denne Art ogsaa spontant paa Urt-Gelatine her i Laboratoriet.

Den er ligesom Mucorineerne overhovedet meget variabel. I Kulturer paa det sidstnævnte Næringssubstrat finder man f. Ex. ikke sjelden Exemplarer, hos hvilke de omtalte Udbygninger paa Columella ere indskrænkede til bakterielignende Forlængelser, og ligeledes saadanne, hos hvilke den er glat. Herved tabes følgelig den væsentligste Karakter og netop den, hvorefter Arten modtog sit Navn. Ogsaa kan her fremhæves, at Columella med vorteformede Fremragninger findes hos flere andre Arter, f. Ex. hos den pathogene Mucor corymbifer. Et nøjere Studium viser, kort sagt, her som overalt paa dette Omraade, hvor mangelfuld vor systematiske Viden er.

I Forsøg, som bleve anstillede ved 22° C. og med Ølurt som Næringsvædske, gav den

efter	4	Døgn	0,5	Vol. % Alkohol,
—	1	Maaned	2,8	- - —
—	2	—	4	- - —
—	5	—	4,8	- - —
—	$6^1/_2$	—	5,4	- - —

I en anden lignende Kultur fandtes efter 1 Aars Henstand ved almindelig Stuevarme 5,5 Vol. % Alkohol. Grændsen synes under disse Forhold her at være naaet.

Gayon angiver, at Mucor spinosus ikke formaar at danne mere end 1—2 Vol. % Alkohol i Ølurt. Ifald vi virkelig have arbejdet med den selvsamme Art, hvilket som anført ikke er muligt med fuld Sikkerhed at afgjøre, antager jeg, at Grunden til den Differens, der findes mellem hans og mine Bestemmelser, ligger deri, at han har afbrudt sit Forsøg paa et forholdsvis tidligt Standpunkt.

En Kultur i en Maltoseopløsning gav hurtigt tydelige Gjæringstegn, og efter 8 Maaneders Henstand indeholdt den 3,4 Vol. % Alkohol.

I Rørsukkeropløsninger fremkaldte den hverken Gjæring eller Inversion.

Efter at være dyrket 16 Døgn ved 25° C. i en Opløsning af 10% Dextrose i Gjærvand gav den 2 Vol. % Alkohol.

Denne Art har saaledes i alle Prøverne udviklet en svagere Gjæringsenergi end foregaaende.

Mucor Mucedo L.

Den Vegetation, hvormed mine Experimenter bleve anstillede, erholdt jeg paa frisk Hestegjødning, som havde ligget nogle Dage under en Glasklokke; den stemmede temmelig nøje overens med den systematiske Beskrivelse af Mucor Mucedo. Sporangiebærerne vare dog hyppigt grenede. Et for Arten væsentligt Kjendetegn bevarede den under alle Dyrkningsforhold, nemlig Mangelen af »Gemmendannelse«.

Efter 15 Døgns Kultur i Urt ved 23° C. udviklede den 0,4 Vol. % Alkohol. I en lignende Kultur, men som blev anstillet ved almindelig Stuevarme, fandtes

efter 2¾ Maaneders Forløb 1 Vol. % Alkohol,
— 6 — — 3 - - —

En saadan Kolbe, som havde staaet 1 Aar i Laboratoriet, indeholdt kun 3,1 Vol. %; Alkoholdannelsen synes altsaa under disse Omstændigheder ikke at kunne gaa videre.

Den gav en svag, men tydelig Alkoholgjæring i en Næringsvædske, bestaaende af 5% Maltose i Gjærvand.

I en Opløsning af 10% Dextrose i Gjærvand dannede den

efter 15 Døgn ved 25° C. 0,5 Vol. % Alkohol,
— 1½ Maaneder - — 0,8 - - —

Invertin udviklede den ikke og fremkaldte ikke Gjæring i en Saccharoseopløsning, derimod gav den ligesom flere andre Mucor-Arter heri en kraftig Vegetation.

Ifølge foranstaaende Undersøgelser hører denne Art til de svagere Alkoholgjærsvampe.

De i mine Forsøg med Ølurt og Dextroseopløsninger fundne Alkoholmængder stemme godt overens med de af Brefeld og Fitz opgivne. Om Forholdet til Maltose gives i nærværende Afhandling for første Gang Oplysning.

Vi gaa derefter over til en Art, som skarpt adskiller sig fra de foregaaende derved, at den udvikler Invertin.

Mucor racemosus Fres.

Denne Art er ligesom den foranstaaende meget udbredt og findes paa lignende Steder som denne. Det Materiale, hvormed de efterfølgende Experimenter bleve anstillede, erholdt jeg fra en svagt gjærende Vædske, der i Sommertiden strømmede ud fra nogle beskadigede Rødder paa Ælmetræer.

I Urtkulturer ved almindelig Stuevarme dannede den

efter	14	Døgn	1,3	Vol.	%	Alkohol,
—	3	Maaneder	4,7	-	-	—
—	12	—	7	-	-	—

Som man af Foranstaaende maatte vente, forgjærer den ogsaa Maltose, men ligesaa lidt som de andre Mucor-Arter viste den kraftige Gjæringsfænomener i en Opløsning deraf.

I den saa ofte omtalte Opløsning af 10 % Dextrose i Gjærvand dannede den ved 25° C.

efter	14	Døgn	1,5	Vol.	%	Alkohol,
—	1½	Maaneder	2,6	-	-	—

Det blev tidligere berørt, at den udvikler Invertin; som en Følge heraf kan den ogsaa omdanne Rørsukkeret til Invertsukker og derpaa forgjære dette.

I et Forsøg, som blev anstillet ved 25° C. med 10 % Rørsukker i Gjærvand, fandtes saaledes

efter	14	Døgn	1,1	Vol.	%	Alkohol,
—	1½	Maaneder	2,3	-	-	—

Mine Resultater stemme, for saa vidt en Sammenligning kan finde Sted, temmelig nøje overens med Pasteurs og Fitz's. Ligesom Fitz og senere Brefeld iagttog ogsaa jeg, at Mucor racemosus udvikler Invertin. Rigtigheden heraf er imidlertid bleven dragen i Tvivl af de franske Gjæringsfysiologer. For nogle Aar siden havde Gayon fundet, at Mucor Mucedo, M. circinelloides, M. spinosus og Rhizopus nigricans mangle Evnen til at danne det nævnte Ferment; denne Iagttagelse har man i Frankrig været tilbøjelig til at tilskrive en større Almengyldighed, end der virkelig tilkommer den. Duclaux gaar i sin Chimie biologique endog saa vidt, at han ligefrem betegner Fitz's Undersøgelse som urigtig. I sit Svar herpaa hævder Fitz ikke blot Rigtigheden af sin egen Iagttagelse, men udtaler tillige sin Mistillid med Hensyn til Gayons

Forsøg. Mine Undersøgelser have vist, at Gayon vel har Ret deri, at et stort Antal Mucorineer mangle Invertin, men paa den anden Side have de ogsaa i Overensstemmelse med Fitz bragt det sikre Resultat, at idetmindste en af Arterne, der kan bestemmes som Mucor racemosus, udvikler dette Ferment. De fremkomne Misforstaaelser have deres væsentligste Grund i den Forvirring, der endnu hersker med Hensyn til Opfattelsen af Species.

Foruden den nærmest foregaaende har jeg tillige fundet en anden Art eller Varietet, der udvikler Invertin. Grunden til, at jeg dog ikke nærmere omtaler den, er denne, at Differensen imellem dem er en saadan, at det vel kunde tænkes, at den ene kun er en Afændring af den anden. Sikkert er det altsaa i hvert Fald, at der iblandt Mucorarterne ogsaa findes Exempel paa Invertinudsondring, og saaledes, som Sagerne staa for Øjeblikket, bliver dette en af de væsentligste Karakterer, naar vi skulle bestemme Species.

I Aarenes Løb har jeg tillige havt Lejlighed til at foretage mere og mindre indgaaende Undersøgelser af flere andre Arter end de her omhandlede. Hvad de opstillede Hovedspørgsmaal angaar, forholde de sig alle som den større Gruppe af de beskrevne: Ingen forgjærer Lactose eller Saccharose, de mangle alle Invertin og fremkalde tydelig Alkoholgjæring i Opløsninger af Dextrose og Maltose, nogle danne dog kun ringe Alkoholmængder.

Resultater.

Med Hensyn til sit Forhold til Sukkerarterne udmærker denne Slægt sig altsaa derved, at dens fleste Species ikke udvikle Invertin, og at alle, for saa vidt de overhovedet fremkalde en tydelig Alkoholgjæring, forgjære Maltose; deres Gjæringer foregaa langsomt, og først efter en forholdsvis lang Tid naa de de højere Alkoholprocenter. Sammenligne vi Arternes Gjæringsevne, saa finde vi snart, at der gjør sig en betydelig Forskjel gjældende. Iblandt de nøjere behandlede danne i den Henseende Mucor erectus og Mucor Mucedo de to Yderpunkter. Medens den førstnævnte i Ølurt naaede indtil 8 Vol. % Alkohol, naaede den sidste derimod ikke 4, og der gives flere, som staa under denne, ja nogle, som egentlig ikke kunne kaldes Alkoholgjærsvampe.

De kraftige Gjærsvampe i denne Slægt sende i Almindelighed under Gjæringen deres Mycel, »Gemmendannelser« og Kuglegjær op til Vædskens Overflade og vise følgelig Overgjæringsfænomener. Ingen af Arterne anvendes i Industriens Tjeneste; de faa Forsøg, der af og til ere blevne gjorte dermed, fik intet praktisk Resultat.

Den Lighed, som i nogle Retninger findes mellem denne Slægt og Slægten Saccharomyces, blev, siden Bail i 1857 opdagede Kuglegjær- og »Gemmendannelserne« hos nogle af Arterne, skjænket stor Opmærksomhed, og Betydningen deraf i disse Studiers Barndom meget overdreven. For Øjeblikket findes næppe nogen kyndig Mykolog, der længere tror paa, at der skulde finde en genetisk Forbindelse Sted mellem de to nævnte Slægter, og Ligheden i fysiologisk Henseende er ej heller saa stor, som den i Almindelighed er bleven fremstillet.

At Kuglegjæren og de saakaldte »Gemmendannelser« ikke staa i et Nødvendighedsforhold til Alkoholgjæringen, kan ses deraf, at visse Arter, f. Ex. Mucor Mucedo, kunne udøve denne Funktion, uagtet de mangle disse Organer, og at de omvendt kunne optræde hos Arter, der ikke ere i Besiddelse af den nævnte Gjæringsevne. I Forbindelse hermed staar ogsaa den Iagttagelse, at de kunne udvikle sig i Næringsvædsker, som mangle Sukker, og hvori altsaa ingen egentlig Alkoholgjæring kan finde Sted. Paa den anden Side viser det sig, at de navnlig dannes i gjæringsdygtige Vædsker, og at de for de Arters Vedkommende, som ere udstyrede dermed, synes at spille en fremtrædende Rolle ved den nævnte Funktion. Ogsaa maa det erindres, at de findes hos alle Arter med udpræget Gjæringsevne og hos disse netop ere stærkt udviklede, medens de enten mangle eller kun ere lidet fremtrædende hos Arter med svag Gjæringsevne. Sammenholdes dette med, hvad vi ellers vide om disse Organer, bliver Resultatet, at de sikkert maa opfattes som Formeringsredskaber, der tillige have den Betydning at hjælpe Arten ud over vanskelige Perioder og at træde i Alkoholgjæringens Tjeneste. Og vi fæste da atter særlig Opmærksomheden paa den Kjendsgjerning, at deres Optræden falder sammen med en høj Udvikling af den sidstnævnte Virksomhed; en Forbindelse findes altsaa mellem begge, dog, som det blev vist, ingen absolut nødvendig. Med Forsæt har jeg ikke villet gaa ind paa Betragtninger over Afstamningsforholdene; jeg har kun ønsket at pege paa Kjendsgjerningerne og derved tillige paa de til disse knyttede interessante fysiologiske Spørgsmaal, der endnu vente paa en indgaaende experimentel Behandling.

5. Oidium lactis. Fres.

Ligesom nogle af de i det Foregaaende omhandlede Arter kan denne egentlig ej heller henføres til Alkoholgjærsvampene; en tydelig Gjæring giver den i hvert Fald ikke under de Forhold, hvor en saadan indtræder, naar Prøverne gjøres med Saccharomyceter eller med andre typiske Alkoholgjærsvampe.

Efter 2 Døgns Kultur i Urt ved 25° C. gav Vædsken endnu hverken Jodoform- eller Pasteurs Draabereaktion; først efter 5 Døgn viste disse Reaktioner, at der var dannet Spor af Alkohol. En kjendelig Kulsyreudvikling med Skumdannelse iagttoges hverken i denne eller i de efterfølgende Forsøgsrækker.

I Maltose- og Saccharose-Opløsninger fremkom der ligesaa lidt Gjæring som i Lactose-Opløsninger. Invertin udviklede den ej heller.

En Kultur i 10 % Dextrose i Gjærvand, som stod 4 Døgn ved 25° C., viste intet Tegn til Alkoholdannelse; efter 7 Døgns Henstand fandtes endelig en svag Draabe- og en stærk Jodoformreaktion.

Brefeld kom væsentlig til det samme Resultat[1]).

6. Tilbageblik.

Idet vi saaledes ere naaede til Slutningen af denne Række Undersøgelser, søge vi efter Sædvane i korte Træk og i en overskuelig Form at fastholde de vigtigste Resultater.

Om Slægten Saccharomyces (p. 222) lærte vi, at dens Arter falde i to Hovedgrupper, eftersom de udvikle Invertin og fremkalde Alkoholgjæring, eller de mangle begge disse Funktioner; af sidstnævnte fandtes kun en eneste Art (Sacch. membranæfaciens, p. 225). Alle Arterne i den førstnævnte Gruppe fremkalde en kraftig Alkoholgjæring i Saccharose- og Dextrose-Opløsninger og udvikle Invertin; de kløves atter i to Afdelinger, hvoraf den ene omfatter et Mindretal (Sacch. Marxianus, p. 222, og Sacch. exiguus samt nogle faa andre, p. 224), som

---

[1]) Om Opfattelsen af denne Art har ligesom om saa mange andre Mikroorganismer Meningerne været meget delte. Mine tidligere Arbejder derover findes i Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I B. 2 H. 1879, p. 243, og I B. 4 H. 1882, p. 409.

mangle Evnen til at forgjære Maltosen, den anden omfatter derimod det store Flertal, som med Kraft ogsaa forgjære denne Sukkerart (p. 222).

I det næste Kapitel (p. 229) blev af praktiske Grunde en Række Arter, henhørende til forskjellige, endnu ubestemte Afdelinger af Systemet, sammenstillede. De stemme alle overens deri, at de have saccharomyceslignende Knopskydning og mangle Endosporer. I fysiologisk Henseende adskille de sig fra den foregaaende Slægt navnlig derved, at kun en eneste, nemlig Monilia candida (p. 234), formaar at forgjære Maltose, og dette uden stor Kraft. Arter, som mangle Invertin, og Arter med meget svag eller slet ingen Gjæringsevne ere her hyppige. Flere fremkalde dog kraftig Gjæring i Dextrose- og i Invertsukkeropløsninger, og hos den foran nævnte Monilia candida blev gjort den mærkelige Iagttagelse, at den forgjærer Saccharose som saadan, altsaa uden foregaaende Inversion. Fæste vi Blikket paa de to Funktioner, Invertinudsondring og Gjæring, saa se vi, at alle mulige Kombinationer finde Sted hos disse Svampe; der findes nogle, som mangle begge, nogle, hos hvilke begge ere tilstede, og endelig nogle, hos hvilke den ene findes, og den anden derimod ikke.

Den tredie Gruppe, hvormed vi anstillede vore Forsøg, indbefatter ligesom den første kun Arter, hørende til een Slægt, nemlig Mucor (p. 245). I fysiologisk Henseende dele de sig i to skarpt adskilte Afdelinger, eftersom de ere i Besiddelse af Invertin eller mangle dette Ferment; det Sidste er Tilfældet med de fleste. De udmærke sig derved, at de, for saa vidt de overhovedet fremkalde en tydelig Alkoholgjæring, da ogsaa forgjære Maltose om end rigtignok ikke med Kraft. I Arternes Gjæringsevne gjør der sig i denne som i den foregaaende Gruppe meget store Differenser gjældende, og der gives ogsaa flere Mucor-Arter, som egentlig slet ikke kunne kaldes Alkoholgjærsvampe.

Dette Sidste gjælder ligeledes om Oidium lactis (p. 252).

Betragte vi de undersøgte Svampes Forhold til Industrien, saa træder den Kjendsgjerning navnlig stærkt frem, at kun Slægten Saccharomyces omfatter Arter, der paa en hurtig og kraftig Maade kunne forgjære Maltosen. Som bekjendt indeholde Ølurten og Mæsken fortrinsvis denne Sukkerart. Bryggerierne og Brænderierne maa derfor søge deres Gjær iblandt de ægte Saccharomyceter; men at ikke alle Arter kunne udføre det ønskede kemiske Arbejde, og at en planmæssig Udvælgen maa finde Sted, lærte ogsaa disse Studier os (p. 227). Hvilke betydningsfulde

praktiske Resultater derved ere opnaaede, omhandles i den følgende Afhandling.

De i tredie Kapitel behandlede saccharomyceslignende Svampe uden Endosporer (altsaa Ikke-Saccharomyceter) kunne, da de paa een Undtagelse nær mangle Evnen til at forgjære Maltose, næppe komme til at spille nogen fremragende Rolle i Bryggeri- eller Brænderidriften, derimod vel i Fabrikationen af Drue- og anden Frugtvin, idet nemlig flere af dem i Dextrose- og Invertsukkeropløsninger udøve en ligesaa kraftig Gjæringsvirksomhed som Saccharomyceterne. Flere af de i Vingjæringen vigtige Gjærsvampe høre muligvis netop hertil. Dette for den nævnte Industri betydningsfulde Spørgsmaal har dog endnu ikke været underkastet en Undersøgelse, og noget Bestemt kan derfor i Øjeblikket ikke siges derom. Pasteur, som er Hovedkilden, har ikke kunnet give Oplysning i den Retning, da han paa intet Sted skjelner mellem Saccharomyceter og Ikke-Saccharomyceter.

Angaaende Mucor-Arterne er kun dette at bemærke, at ingen anvendes i Industriens Tjeneste; det Samme gjælder om Oidium lactis.

Efterat vi saaledes have betragtet de undersøgte Organismer i deres Forhold til de fire Sukkerarter, kan det omvendt have sin Interesse at erholde en Oversigt over, hvorledes enhver af Sukkerarterne selv stiller sig.

Saavidt Forsøgene gaa, fandtes intet Exempel paa, at Maltosen gjennemgik nogen Omdannelse ved Indvirkning af Svampenes Invertin (de fleste Saccharomyceter og Mucor racemosus, p. 249); i de Tilfælde, hvor en Forgjæring fandt Sted, maa vi derfor antage, at denne har været direkte, og dette saa meget mere, som flere af Arterne, der fremkalde Gjæring i Opløsninger af denne Sukkerart, slet ikke ere i Besiddelse af Invertin (Monilia candida, p. 234, og alle de hidtil undersøgte Alkoholgjærsvampe af Slægten Mucor med Undtagelse af Mucor racemosus, p. 249). Ofte indtræder slet ingen Forgjæring af denne Sukkerart (Sacch. Marxianus, p. 222, Sacch. exiguus og nogle faa andre Saccharomyceter, p. 224, den saakaldte Sacch. apiculatus, p. 230, og Torula-Arterne, p. 231).

Med Hensyn til Saccharosen viste det sig, at den under Paavirkning af Alkoholgjærsvampene enten forgjæres direkte uden foregaaende Inversion (Monilia candida, p. 234) eller indirekte, nemlig efter at være bleven omdannet til Invertsukker (de fleste Saccharomyceter, nogle Torula-Arter, p. 231, og Mucor racemosus, p. 249), eller slet ikke (Sacch. apiculatus, p. 230, nogle Torula-Arter, p. 231, og de fleste Mucor-Arter, p. 246).

Den tredie Sukkerart, Dextrose, var den eneste, der af alle de undersøgte Alkoholgjærsvampe uden Undtagelse blev underkastet Gjæring, og i de Tilfælde, hvor en Sammenligning blev anstillet, viste det sig bestandigt, at den blev forgjæret hurtigere og med større Kraft end Saccharosen og Maltosen. Denne Iagttagelse har ogsaa sin Interesse for Kulturmethoderne; heraf følger nemlig, at man, naar Opgaven er at dyrke en eller anden ukjendt Art, sikrest naar Øjemedet ved at anvende Dextrose.

Om Lactosen blev det allerede i Afhandlingens Begyndelse fremhævet, at kun en af alle de hidtil kjendte Alkoholgjærsvampe formaar at forgjære den (p. 222).

Det er af sig selv indlysende, at de indvundne Resultater ogsaa kunne have deres Betydning for den analytiske Kemi, f. Ex. naar Talen er om at foretage Undersøgelser af Opløsninger, indeholdende flere Sukkerarter. Endnu foreligger der hverken nøjagtige kvalitative eller kvantitative Bestemmelser af Ølurtens Sukkerindhold. I de zymotekniske Skrifter er der kun Tale om Maltose, og hele Indholdet beregnes som saadan. At dette dog ikke er fuldstændig rigtigt, ved enhver Kemiker, som har foretaget Studier paa dette Omraade. Betragte vi imidlertid Rækken af Alkoholgjærsvampene, som ikke formaa at fremkalde Gjæring i Maltoseopløsning (Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus og Torula-Arterne), saa finde vi, at de i den til Forsøgene anvendte Ølurt dog i Reglen frembringe omkring 1 Vol. % Alkohol. Den herfor til Grund liggende Sukkermængde regnes i den sædvanlige kemiske Analyse ogsaa med til Maltosen, hvilket naturligvis er urigtigt. Et nøjagtigere Resultat vil man idetmindste i flere Tilfælde kunne naa ved at tage en eller anden af de netop nævnte Alkoholgjærsvampe til Hjælp.

Et af de Hovedspørgsmaal, der gaa gjennem alle mine Studier over Alkoholgjærsvampene, er Spørgsmaalet om Species og disses Begrændsning. I nærværende Afhandling blev det ligeledes skjænket en særlig Opmærksomhed. Vi saa da, at Arterne ogsaa indenfor samme Slægt, i deres Forhold til Sukkerarterne, kunne fremvise konstante og tydelige Differenser; i enhver af de tre store Grupper traadte Exempler frem i den Retning.

Talrige Beviser have vi saaledes erholdt derpaa, at Alkoholgjærsvampenes Forhold i den Henseende er af forskjellig Natur. De iagttagne Differenser finde i nogle Tilfælde en foreløbig Forklaring deri, at vedkommende Gjærart enten udvikler Invertin eller mangler dette Ferment, men som oftest staa vi blottede for enhver som helst Tydning og kunne kun iagttage Kjendsgjerningerne.

Ligesaa lidt som vi fatte, hvorfor to under Mikroskopet aldeles ensartede Celler i deres fysiologiske Virksomhed dog kunne være saa forskjellige, at den ene f. Ex. udvikler det nævnte Ferment, den anden derimod ikke, ligesaa lidt formaa vi at indse, hvorfor en Gjærcelle kan forgjære Maltose, og en anden af selvsamme Udseende derimod ikke; vor Viden tillader os kort sagt ikke at sætte Funktionerne i Forhold til Noget hos Cellen selv. Ingen af de hidtil opstillede Gjæringstheorier giver os Oplysning om disse fundamentale Spørgsmaal. Det er de store, endnu aldeles dunkle Problemer om Protoplasmaets Natur, der her møde os; men Problemer, som ikke længere kunne holdes borte fra den experimentelle Forskning. Ikke heller kan der let i den Retning tænkes et gunstigere Objekt end Gjærcellerne, hvor Bygningen er saa simpel og Funktionerne forholdsvis faa. De Undersøgelser, der hidtil ere fremkomne, bevæge sig altsaa, ret beset, endnu bestandig paa Overfladen, og en dybere Betydning faa de kun, for saa vidt de danne Forarbejder til det Nye, der skal komme.

December 1887.

Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis.

Af

Emil Chr Hansen.

> Der gives Intet mere Tillokkende for Forskeren end at gjøre nye Opdagelser, men dobbelt stor bliver hans Glæde, naar han ser, at disse øjeblikkelig faa direkte Anvendelse i det praktiske Liv
> *Pasteur* (Studier over Eddikefabrikationen).

I.

Indledning.

Expetimentelle Studier over Mikroorganismerne føre let ind paa praktiske Opgaver, til den ene Side i Lægekunsten, til den anden i Industriens Tjeneste. De theoretiske og de praktiske Problemer paa dette Omraade gaa Haand i Haand sammen og kunne ofte ikke adskilles. Dette har ogsaa vist sig at være Tilfældet med mine Arbejder, allerede de første fra 1878 bære Vidnesbyrd derom, og betragte vi den Række Afhandlinger, som jeg siden 1881 har udgivet under Fællestitelen »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«, saa træder dette endnu tydeligere frem. Nogle have hovedsagelig theoretisk Interesse, andre gribe derimod direkte ind i Gjæringsindustriens Praxis. Herved erholde de et dobbelt Præg, og eftersom den ene eller den anden af de nævnte Sider er fremtrædende, faa de Betydning for de to Klasser af Læsere, for hvilke de ere skrevne: Videnskabsmændene, der søge theoretiske Oplysninger, og Praktikerne, der ønske at indrette deres Drift efter rationelle Principer og at opnaa forhøjet materielt Udbytte.

Disse Overvejelser have bevirket, at jeg fra nu af agter at udgive dem i to Rækker, saaledes at de theoretiske Undersøgelser

fremdeles offentliggjøres i den foran nævnte Række, hvorimod de, som have direkte praktisk Anvendelse, skulle danne en ny under den ovenfor angivne Titel.

Allerede for flere Aar siden opfordrede Stifteren af Carlsberg Fondet og dets Laboratorium, afdøde J. C. Jacobsen, mig gjentagne Gange til at udgive saadanne Skrifter for Praktikere og ikke blot i mit Modersmaal for skandinaviske Læsere, men tillige i det tydske Sprog, for at de kunde finde Udbredelse i de Lande, hvor Gjæringsindustrien fra gammel Tid af særlig har udfoldet sig. Jeg lovede ogsaa dette; men nye Undersøgelser, som bestandig trængte sig frem, forhindrede mig hidtil deri. Først nu efter Jacobsens Bortgang er jeg bleven istand til at opfylde mit Løfte.[1])

Idet jeg altsaa herefter udgiver mine gjæringsfysiologiske Arbejder i de to nævnte Rækker, maa jeg paany minde om, hvad jeg i Begyndelsen af denne Indledning bemærkede, nemlig, at de theoretiske og praktiske Studier i Virkeligheden ikke strængt kunne adskilles. Ønsker Praktikeren en fuldstændig Forstaaelse af de Undersøgelser, der nærmest ere udarbejdede for ham, maa han tillige studere meget af det Øvrige, og omvendt vil ogsaa Fysiologen og Mykologen i den nu begyndte Række kunne finde Oplysninger, som tjene til at fuldstændiggjøre mine mere theoretiske Studier.

En Vejledning for mig ved Udarbejdelsen heraf vare de Spørgsmaal, der efterhaanden og fra forskjellige Sider bleve stillede til mig; ved at tage nøje Hensyn hertil, haaber jeg at være kommen Maalet nærmere og at have gjort en Brevvexling overflødig, som i de senere Aar har lagt meget Beslag paa min Tid.

Jeg udsender disse Arbejder med det Ønske, at de maa være til Nytte for den store, vigtige Industri, i hvis Tjeneste de ere udførte, og at de maa vise, at der fra dansk Side paa en hæderlig Maade tages Del i Fremskridtsarbejdet.

Carlsberg Laboratorium, Kjøbenhavn, Februar 1888.

---

[1]) En tydsk Udgave af nærværende Arbejder vil i Løbet af dette Aar udkomme paa R. Oldenbourgs Forlag i München under Titelen »Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie«.

II.

Gjær-Rendyrkningen i Industriens Tjeneste.

---

1. Om Indførelsen af rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften og de herved vundne Resultater.

Hvori det nye Fremskridt bestaar.

Det vil være flere af mine Læsere bekjendt, at det i 1883 lykkedes for mig at indføre rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften. De første Forsøg bleve anstillede i det berømte Bryggeri Gl. Carlsberg ved Kjøbenhavn. Da jeg begyndte mine Arbejder i den Retning, var Gjærspørgsmaalet overalt i Bryggerierne en fuldstændig Gaade, det var det svageste Punkt i Driften. Kom der Vanskeligheder, byttede man Gjær med et andet Etablissement, ogsaa blandede man hyppig Gjær fra flere Bryggerier sammen. Undertiden kunde man vel herved erholde et godt Resultat, men ofte ogsaa et ligesaa slet eller et endnu slettere end det, der gav Anledning til, at man søgte ny Gjær. I alle Tilfælde var det en Arbejden paa Slump og i Blinde, man vidste kort sagt slet ikke, hvad man satte til sin Urt. Analysen, som den den Gang var mulig, gik ikke længere end i det Højeste til at afgjøre, om Gjæren var uren af Skimmel og Bakterier eller ej, men meget ofte viste det sig, at en Gjær, som man efter en saadan Undersøgelse maatte erklære for god, dog netop gav et slet Resultat. Herved blev jeg da naturligt ført til den Anskuelse, at Hemmeligheden maatte ligge i Gjærcellerne selv, og at disse tilsyneladende ensartede Celler dog muligvis kunde vise sig at tilhøre forskjellige Arter. Fra dette Udgangspunkt sprang efterhaanden mine Undersøgelser frem over Saccharomyces-Arterne, hvis nærmeste praktiske Frugter bleve e n n y a n a l y t i s k M e t h o d e

Ligesaa lidt som vi fatte, hvorfor to under Mikroskopet aldeles ensartede Celler i deres fysiologiske Virksomhed dog kunne være saa forskjellige, at den ene f. Ex. udvikler det nævnte Ferment, den anden derimod ikke, ligesaa lidt formaa vi at indse, hvorfor en Gjærcelle kan forgjære Maltose, og en anden af selvsamme Udseende derimod ikke; vor Viden tillader os kort sagt ikke at sætte Funktionerne i Forhold til Noget hos Cellen selv. Ingen af de hidtil opstillede Gjæringstheorier giver os Oplysning om disse fundamentale Spørgsmaal. Det er de store, endnu aldeles dunkle Problemer om Protoplasmaets Natur, der her møde os; men Problemer, som ikke længere kunne holdes borte fra den experimentelle Forskning. Ikke heller kan der let i den Retning tænkes et gunstigere Objekt end Gjærcellerne, hvor Bygningen er saa simpel og Funktionerne forholdsvis faa. De Undersøgelser, der hidtil ere fremkomne, bevæge sig altsaa, ret beset, endnu bestandig paa Overfladen, og en dybere Betydning faa de kun, for saa vidt de danne Forarbejder til det Nye, der skal komme.

December 1887.

Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis.

Af

Emil Chr Hansen.

Der gives Intet mere Tillokkende for Forskeren end at gjøre nye Opdagelser, men dobbelt stor bliver hans Glæde, naar han ser, at disse øjeblikkelig faa direkte Anvendelse i det praktiske Liv
Pasteur (Studier over Eddikefabrikationen).

I.

Indledning.

Expetimentelle Studier over Mikroorganismerne føre let ind paa praktiske Opgaver, til den ene Side i Lægekunsten, til den anden i Industriens Tjeneste. De theoretiske og de praktiske Problemer paa dette Omraade gaa Haand i Haand sammen og kunne ofte ikke adskilles. Dette har ogsaa vist sig at være Tilfældet med mine Arbejder, allerede de første fra 1878 bære Vidnesbyrd derom, og betragte vi den Række Afhandlinger, som jeg siden 1881 har udgivet under Fællestitelen »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«, saa træder dette endnu tydeligere frem. Nogle have hovedsagelig theoretisk Interesse, andre gribe derimod direkte ind i Gjæringsindustriens Praxis. Herved erholde de et dobbelt Præg, og eftersom den ene eller den anden af de nævnte Sider er fremtrædende, faa de Betydning for de to Klasser af Læsere, for hvilke de ere skrevne: Videnskabsmændene, der søge theoretiske Oplysninger, og Praktikerne, der ønske at indrette deres Drift efter rationelle Principer og at opnaa forhøjet materielt Udbytte.

Disse Overvejelser have bevirket, at jeg fra nu af agter at udgive dem i to Rækker, saaledes at de theoretiske Undersøgelser

fremdeles offentliggjøres i den foran nævnte Række, hvorimod de, som have direkte praktisk Anvendelse, skulle danne en ny under den ovenfor angivne Titel.

Allerede for flere Aar siden opfordrede Stifteren af Carlsberg Fondet og dets Laboratorium, afdøde J. C. Jacobsen, mig gjentagne Gange til at udgive saadanne Skrifter for Praktikere og ikke blot i mit Modersmaal for skandinaviske Læsere, men tillige i det tydske Sprog, for at de kunde finde Udbredelse i de Lande, hvor Gjæringsindustrien fra gammel Tid af særlig har udfoldet sig. Jeg lovede ogsaa dette; men nye Undersøgelser, som bestandig trængte sig frem, forhindrede mig hidtil deri. Først nu efter Jacobsens Bortgang er jeg bleven istand til at opfylde mit Løfte.[1])

Idet jeg altsaa herefter udgiver mine gjæringsfysiologiske Arbejder i de to nævnte Rækker, maa jeg paany minde om, hvad jeg i Begyndelsen af denne Indledning bemærkede, nemlig, at de theoretiske og praktiske Studier i Virkeligheden ikke strængt kunne adskilles. Ønsker Praktikeren en fuldstændig Forstaaelse af de Undersøgelser, der nærmest ere udarbejdede for ham, maa han tillige studere meget af det Øvrige, og omvendt vil ogsaa Fysiologen og Mykologen i den nu begyndte Række kunne finde Oplysninger, som tjene til at fuldstændiggjøre mine mere theoretiske Studier.

En Vejledning for mig ved Udarbejdelsen heraf vare de Spørgsmaal, der efterhaanden og fra forskjellige Sider bleve stillede til mig; ved at tage nøje Hensyn hertil, haaber jeg at være kommen Maalet nærmere og at have gjort en Brevvexling overflødig, som i de senere Aar har lagt meget Beslag paa min Tid.

Jeg udsender disse Arbejder med det Ønske, at de maa være til Nytte for den store, vigtige Industri, i hvis Tjeneste de ere udførte, og at de maa vise, at der fra dansk Side paa en hæderlig Maade tages Del i Fremskridtsarbejdet.

Carlsberg Laboratorium, Kjøbenhavn, Februar 1888.

---

[1]) En tydsk Udgave af nærværende Arbejder vil i Løbet af dette Aar udkomme paa R. Oldenbourgs Forlag i München under Titelen »Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie«.

II.

Gjær-Rendyrkningen i Industriens Tjeneste.

---

1. Om Indførelsen af rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften og de herved vundne Resultater.

Hvori det nye Fremskridt bestaar.

Det vil være flere af mine Læsere bekjendt, at det i 1883 lykkedes for mig at indføre rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften. De første Forsøg bleve anstillede i det berømte Bryggeri Gl. Carlsberg ved Kjøbenhavn. Da jeg begyndte mine Arbejder i den Retning, var Gjærspørgsmaalet overalt i Bryggerierne en fuldstændig Gaade, det var det svageste Punkt i Driften. Kom der Vanskeligheder, byttede man Gjær med et andet Etablissement, ogsaa blandede man hyppig Gjær fra flere Bryggerier sammen. Undertiden kunde man vel herved erholde et godt Resultat, men ofte ogsaa et ligesaa slet eller et endnu slettere end det, der gav Anledning til, at man søgte ny Gjær. I alle Tilfælde var det en Arbejden paa Slump og i Blinde, man vidste kort sagt slet ikke, hvad man satte til sin Urt. Analysen, som den den Gang var mulig, gik ikke længere end i det Højeste til at afgjøre, om Gjæren var uren af Skimmel og Bakterier eller ej, men meget ofte viste det sig, at en Gjær, som man efter en saadan Undersøgelse maatte erklære for god, dog netop gav et slet Resultat. Herved blev jeg da naturligt ført til den Anskuelse, at Hemmeligheden maatte ligge i Gjærcellerne selv, og at disse tilsyneladende ensartede Celler dog muligvis kunde vise sig at tilhøre forskjellige Arter. Fra dette Udgangspunkt sprang efterhaanden mine Undersøgelser frem over Saccharomyces-Arterne, hvis nærmeste praktiske Frugter bleve e n n y a n a l y t i s k M e t h o d e

og Paavisningen af, at nogle af de almindeligste og værste Sygdomme i Øllet, som uheldige Smagsforandringer og Gjærtykhed, ikke skyldes Bakterier, men derimod visse bestemte Gjærarter.

Først da dette ved strængt gjennemførte Experimenter var fastslaaet saavel i Laboratoriet som i Driften selv, blev det indlysende, at det ikke var nok som hidtil at arbejde med en Gjær, der var fri for Bakterier og Skimmel, men at Sagen maatte tages fra et helt andet Synspunkt: Gjæren maatte kun indeholde een eneste Saccharomyces-Art, nemlig den for Bryggeriet gunstigste.

Hvorledes denne Reform af mig blev udført og fremdeles kunde føres videre, derom gav jeg en kort foreløbig Meddelelse i Zeitschrift für das ges. Brauwesen, München 1884, p. 273. I Laboratoriets eget Tidsskrift fandt jeg hidtil ikke Lejlighed til at behandle dette Æmne, og en samlet udførlig Fremstilling deraf gives overhovedet nu for første Gang. Paa en vis Maade kan det maaske være heldigt, at den fremkommer saa sent, nemlig over fire Aar efter, at Undersøgelserne hovedsagelig vare færdige. Jeg har i hvert Fald derved indvundet en større Erfaring og sættes i Stand til paa eet Sted at sammenfatte de betydningsfuldeste Bidrag fra det nævnte Tidsrum til Belysning af mit Arbejde, saavel for som imod dette. At citere disse Afhandlinger vilde her blive for vidtløftigt; de skyldes især: Amthor, Aubry, Belohoubek, Borgmann, Chodounsky, Delbrück, Flühler, Grønlund, Hayduck, J. C. Jacobsen, Alfr. Jørgensen, Lintner, P. Lindner, Morris, Marx, Thausing, Velten og Will.

De fleste af disse Forfattere have taget Parti for mine Bestræbelser, og efterhaanden ere de store Angreb forstummede. Smaa Angreb og Forsøg paa at nedsætte Betydningen af mine Arbejder træde imidlertid endnu jævnlig frem og ofte med den selvsamme Bevisførelse, som allerede overfor en tidligere Modstander er bleven fuldstændig gjendreven. Jeg har heraf lært, at den samme Sandhed atter og atter maa gjentages, hvis man vil, at den tilsidst skal trænge igjennem. Mine Svar og Berigtigelser i den Retning har jeg med Forsæt dog ikke villet rette til de bestemte Forfattere, som egentlig gave Anledning dertil, kun paa eet Sted gjorde jeg en Undtagelse herfra, nemlig med Hensyn til det i disse Dage offentliggjorte Angreb fra Pasteurs tidligere Medarbejder, Velten i Marseille.

Mine Forgængeres Bidrag.

Forinden vi gaa videre, vil det være nyttigt at kaste et Blik tilbage paa det, som gik forud for mit Arbejde; ligesom ethvert andet støtter det sig nemlig til Forgængernes. I dette Tilfælde er det først og fremmest Pasteur, hvorom Talen maa være.

Det var som bekjendt denne berømte Forsker, der i sit Værk, Études sur la bière 1876 egentlig for første Gang paa en indtrængende Maade gjorde det indlysende, hvilken mægtig Rolle Mikroorganismerne spille i Gjæringsindustrien. Han fremhævede heri de uheldige Forandringer (Sygdomme), som Øl kan blive underkastet, naar det angribes af Bakterier. Da disse ved deres Form let kunne skjelnes fra Gjærcellerne, anbefalede han en flittig Brug af den mikroskopiske Undersøgelse i Bryggerierne og gav Anvisning til at føre Gjæringerne saaledes, at Organismer udenfra kunde holdes borte, og til at fremstille, hvad han, rigtignok med Urette, kalder en absolut ren Gjær.

Paa Grundlag heraf mente Pasteur, at Ølfabrikationen skulde kunne finde Sted ikke blot til enhver Aarstid og overalt, men tillige uden Anvendelse af de hidtil benyttede kostbare Afkølingsmidler (Is og Ismaskiner). Udviklingen er imidlertid foregaaet paa en hel anden Maade og maatte foregaa saaledes, hvis man vilde holde fast ved de Hovedkarakterer, hvorved undergjæret Øl adskiller sig fra Vin. Og hvad den anbefalede Gjær angaar, da kunde den ejheller faa den ønskede Betydning, fordi den i Virkeligheden ikke var en Renkultur. Kjærnen i hans Værk finde vi ikke paa disse Omraader, men derimod i hans epokegjørende Lære om Bakterierne og de af disse fremkaldte Forstyrrelser.

En bestemt Methode til at erholde en Renkultur angiver han ikke, man maa i hvert enkelt Tilfælde prøve sig frem og gjennem en Række Kulturer saa vidt muligt søge at begunstige den Organisme, man ønsker, samtidig med, at man undertrykker de tilstedeværende Konkurrenter. Det Højeste, der ad denne Vej kan opnaas, er at fremstille en Gjær, som er fri for Bakterier og Skimmelsvampe, og selv dette kan ikke altid med Sikkerhed ske.

Muligvis har Pasteur kun villet, at Industrigjæren skulde være fri for Bakterier; saaledes har i hvert Fald Velten forstaaet ham. Tydeligt ses det ikke i hans Værk; dette vilde overhovedet have kunnet stifte en endnu større Nytte end Tilfældet er, hvis der deri klart havde været skjelnet imellem det, der kun er usikre Formodninger, og det, som er beviste Lærdomme, hvorpaa der kan bygges videre.

Vi have imidlertid ovenfor hørt, at nogle af de farligste og almindeligste Sygdomme hos Øllet, hvad Smagen, Lugten, Klarheden og Holdbarheden angaar, bero paa helt andre Aarsager, og at Kimene hertil netop udgjøres af en Del af Gjærcellerne selv. Selv om Pasteurs Gjær var fri for Bakterier, kunde den altsaa dog godt indeholde Sygdomskim, og den gav følgelig slet ingen Garanti. Heri maa en af Grundene søges til, at hans forøvrigt geniale Værk ikke kunde slaa Rod i Praxis. De Forsøg, som, kort efter dets Fremkomst, bleve anstillede paa Carlsberg, førte ejheller til Noget, og Pasteurs Fremgangsmaade blev derfor hurtigt opgivet.

Allerede i ældre Bryggeribøger før Pasteurs Tid findes den Anskuelse udtalt, at der gives forskjellige Slags Gjær, som fremkalde forskjellige Gjæringer, og som kunne give Øllet en forskjellig Karakter. Lignende Forestillinger finde vi ogsaa hos ældre Gjæringsfysiologer, f. Ex. hos Bail i 1857. Den almindeligste Opfattelse var da, at Bryggerigjæren hurtigt skulde kunne skifte Karakter, blot ved at føres fra et Bryggeri til et andet, ja mange gik saa vidt, at de antoge, at den kunde udvikle sig til Mucor-Gjær og gjennemløbe en hel Række Skimmelformer. Ved Siden heraf traadte den Opfattelse frem, navnlig gjennem Reess 1870, at Gjærarterne have en begrændset Udviklingskreds, og idet man da uden videre efter Cellernes Form alene opstillede Arter, kaldte man de pølsedannede Sacch. Pastorianus, de smaa ovale Sacch. ellipsoideus og de større ovale Sacch. cerevisiæ o. s. v. At ogsaa denne Betragtningsmaade er urigtig, vide vi nu. Der blev kort sagt gjættet paa alt Muligt, men Intet bevist; der stod altsaa bestandig tilbage at udfinde det Rigtige.

Væsentlig videre kom Pasteur ikke paa dette Omraade, thi de Methoder, der stode til hans Raadighed, tillode det ikke. I Kapitel V i det citerede Værk tales om forskjellige Alkoholgjærsvampe, og der drøftes paa flere Steder det Spørgsmaal, om de ere selvstændige Arter eller maaske kun Omdannelser af den almindelige Kulturgjær, en Afgjørelse heraf var det imidlertid ikke muligt at erholde; paa nogle Steder, f. Ex. p. 147, synes han at have den Opfattelse, at de optræde med bestemte Speciesmærker, paa andre, f. Ex. p. 193, derimod at mene, at de have en ubegrændset Evne til at variere, og at Species ikke findes iblandt dem. Paa samme Maade drøfter han Mulighederne for en Omdannelse af Bryggeri-Overgjær til Undergjær og omvendt, og medens hans Undersøgelse p. 189 nærmest viser hen til, at en saadan ikke finder Sted, kommer han senere til den Anskuelse, at

dette dog turde være Tilfældet, p. 213, og p. 333 Anm. giver han endog Anvisning til Bryggerne, hvorledes de efter hans Mening maa forholde sig, hvis de ville sikre sig imod, at deres Undergjær ikke skal blive omdannet til Overgjær, og her er vel at mærke ikke Tale om en foreløbig Omdannelse. Der diskuteres saaledes alle Muligheder, men et bestemt videnskabeligt Standpunkt blev ikke opnaaet. Hertil bidrog ikke blot den Omstændighed, at Videnskabens daværende Udvikling vel næppe tillod det, men tillige, at Pasteur ikke vilde gaa ind paa en botanisk Behandling af Problemet. Der gjøres i hans Værk intet Forsøg paa at skjelne mellem Saccharomyceter og Ikke-Saccharomyceter, alle Gjærceller med sædvanlig Knopskydning og med nogenlunde udpræget Evne til at fremkalde Alkoholgjæring stilles lige og betegnes snart som Saccharomyces, snart som levûres, ferments alcooliques etc.; men herved sammenblandes Organismer, henhørende til helt forskjellige Afdelinger i vort nuværende System. Under disse Omstændigheder kunde der selvfølgelig hverken blive Tale om at foretage en Analyse eller en planmæssig Udvælgen af Species.

Den Kritik, der maatte ligge i ovennævnte Redegjørelse, gjælder ikke det med Rette berømte Værk, men de Disciple, der fremdeles holde fast ved de uklare Standpunkter og med Forkjærlighed opsøge de dunkle Steder for deri at læse, hvad der ikke findes deri og efter den Tid, Værket blev udgivet, ikke kunde findes deri.

I Modsætning til Pasteur gik jeg fra Begyndelsen af ud paa at opdage botaniske Skjelnemærker hos de som Regel tilsyneladende ensartede Gjærceller. Og snart viste det sig ogsaa, at Gjærspørgsmaalets Løsning var ensbetydende med Spørgsmaalet om Saccharomyces-Arterne. Grunden til, at mine Studier skrede saa langsomt fremad, var den, at de Methoder, jeg forefandt, i de fleste Tilfælde vare ubrugelige, og at jeg selv først maatte udarbejde nye. Hvad Renkulturen angaar, gik jeg bestandig ud fra det Princip, at kun Udsæd af een Celle giver absolut Sikkerhed; ogsaa naar jeg anvendte Næringsgelatine, holdt jeg i Modsætning til Koch og hans Skole fast derved.

Idet mine Undersøgelser saaledes sprang ud fra andre Synspunkter end Pasteurs, lykkedes det at erholde praktiske og theoretiske Resultater, som ikke kunde vindes paa den af ham anviste Vej. Men at hans Værk var et saare vigtigt Forarbejde for mig, hvortil jeg i mere end een Retning kunde støtte mine Bestræbelser, skal altid erkjendes; det var for sin Tid det ypperligste, og det

har stiftet stor Nytte[1]). Maatte en Gang ogsaa min Lære og mine Methoder, naar de i Følge Forskningens Fremskridt skulle afløses af fuldkomnere, nogenlunde kunne fortjene en lignende Ros.

De vundne praktiske Resultater.

Da jeg i 1883 henvendte mig til Ejeren af Gl. Carlsberg, afdøde Kapt. J. C. Jacobsen, for at udbede mig Tilladelse til at anstille mine Forsøg i det Store i selve Bryggeriet, havde han ikke nogen god Tro til mine Planer. En af de væsentligste Indvendinger, som han fremsatte for mig, var, at en Renkultur af Bryggeri-Undergjær ikke kunde give en passende Eftergjæring, men at de vilde Arter, som jeg jo udelukkede, vistnok netop fordredes hertil.

Kort forinden jeg henvendte mig til ham, havde en Del af mine Undersøgelser imidlertid givet et slaaende Resultat i Praxis, hvilket i høj Grad talte for, at min Lære om Saccharomyces overhovedet maatte være rigtig. I en Afhandling om Sygdomme i Øl (se nærværende Tidsskrift 1883, p. 93) havde jeg udklaret den Sygdom, som i Tuborg-Bryggeriet ved Kjøbenhavn i Løbet af et Par Aar havde anrettet saa stor Skade, nemlig Gjærtykhed, og da Fabrikken ved paa en fornuftig Maade at anvende de givne Oplysninger hurtigt igjen kom i Orden, forelaa der saaledes her et haandgribeligt Bevis for mine Opdagelsers praktiske Betydning. Omtrent paa samme Tid viste der sig, som Jacobsen selv omtaler i sit Foredrag i teknisk Forening, en Vanskelighed i hans Bryggeri, idet Øllet nemlig begyndte at antage en ubehagelig bitter Smag og ilde Lugt. Efter den Tids Opfattelse søgte han ganske naturlig Aarsagen hertil i en Bakterieinfektion, og da en saadan ikke fandtes, i en Fejl ved Urten, navnlig ved Humlen. Men heller ikke her var der noget at opdage. I en Afhandling fra 1882 havde jeg lejlighedsvis meddelt en lille Undersøgelse over en Saccharomycet, som frembragte et Øl af en lignende Beskaffenhed som det, hvorover der førtes Klage paa Gl. Carlsberg. Jeg udtalte da tillige den Anskuelse, at de vilde Gjærarter kunde fremkalde ligesaa store Forstyrrelser i Gjæringsindustrien som Bakterierne.

---

[1]) En udførligere Fremstilling af disse Forhold findes i Jørgensens literaturhistoriske Undersøgelse: »Ueber den Unterschied zwischen Pasteurs und Hansens Standpunkt in der Hefefrage«. (Zeitschrift für das gesammte Brauwesen, München 1888, p. 58).



At der ikke den Gang blev skjænket min Lære ret megen Opmærksomhed, var temmelig naturligt, thi den var endnu ikke tilstrækkelig begrundet, og hvad der særlig maatte indgyde Jacobsen Mistillid, var den Omstændighed, at den ikke stemmede overens med Pasteurs. I 1883 var jeg imidlertid kommen et Skridt videre frem, og det Held, jeg havde havt paa Tuborg, bevirkede da ogsaa, at jeg erholdt den ønskede Tilladelse. Prøverne bleve altsaa anstillede under de store Forhold i Driften selv, og Beviserne efterhaanden førte paa en uigjendrivelig Maade.

Af den urene Gjær udskilte jeg fire forskjellige Saccharomyces-Arter, og ved at experimentere dels med hver enkelt for sig og dels med Blandinger af dem viste det sig, at kun een gav normalt Øl med god Smag og god Lugt, som det ønskedes. Det er denne Art, der nu i Bryggeriverdenen er almindelig kjendt under Navn af Carlsberg Undergjær Nr. 1. Iblandt de andre fandtes den Art, hvormed jeg havde anstillet mine Forsøg i 1882, og hvoraf jeg i en af mine Afhandlinger fra 1883 havde givet en indgaaende Beskrivelse; jeg har der betegnet den med det foreløbige Navn, Sacch. Pastorianus I. Kun den var det, som fremkaldte Sygdommen. Bestandig viste det sig, at Øllet, som blev fremstillet ved Hjælp af den udvalgte Bryggeri-Gjærart for sig alene, blev fortrinligt, hvorimod en Tilsætning af Sacch. Pastorianus I bevirkede, at det fik den frygtede bitre Smag og ubehagelige Lugt. Dette Resultat fik stor Betydning, thi Jacobsen erkjendte nu, at der virkelig forelaa en Reform, og han aabnede hele sit store Bryggeri derfor. I Begyndelsen gik han endog hurtigere frem, end jeg egentlig selv ønskede. Hermed vare Kampene for denne Sag endte paa Gl. Carlsberg. Dette skete i 1884.

Jeg har meddelt disse Oplysninger fra de to nævnte Bryggerier, dels fordi de vise, hvorledes Udviklingen gik, og dels fordi de paa en levende Maade ville tale for den Reform, jeg ønsker at skaffe en saa stor Fremgang som muligt.

Prøven viste altsaa, at Jacobsens Betænkeligheder med Hensyn til Eftergjæringen vare ugrundede. Desuagtet blev senere fra andre Sider atter denne Tvivl udtalt. En Art Støtte syntes den at kunne finde i Brown's og Morris's Afhandling, On the non crystallisable products of the action of diastase upon starch (Journal of the chemical society, 1885).

For Øjeblikket har jeg kun hos engelske Forskere mødt denne Indvending; det synes saaledes, som om Fremstillingen af det alkoholrige engelske overgjærede Øl kunde lægge særlige Vanskeligheder i Vejen for Anvendelsen af Renkulturer. I danske

Overgjæringsbryggerier, hvor der fremstilles mindre alkoholrige Øl-sorter uden egentlig Eftergjæring, har A. Jørgensen derimod siden 1884 med Held anvendt Methoden med nogle Tillæmpninger; fornylig er dette ogsaa, ifølge hans mundtlige Meddelelser, sket i et Par udenlandske Bryggerier, der væsentlig arbejde paa samme Maade som de engelske.

Det var navnlig ved Jacobsens Autoritet, at mine praktiske Forsøg i meget kort Tid bleve bekjendte saavel herhjemme som i Udlandet; dog bleve de som Regel selv af intelligente Bryggere betragtede med Mistillid. Denne Modstand vilde have kunnet forhindre Sagens Fremme i flere Aar, hvis ikke Aubry strax fra Begyndelsen af med Kraft og Dygtighed havde arbejdet derfor. Ham tilkommer Æren for at have banet Vejen for denne Reform i Tydskland. I Bøhmen var det senere Belohoubek, som gjorde Begyndelsen, i Norge Hejberg. Herhjemme bleve mine Bestræbelser støttede af A. Jørgensen og Grønlund. Jørgensens Laboratorium har navnlig udfoldet en betydelig Virksomhed. Ikke blot ere talrige skandinaviske Bryggerier derfra blevne forsynede med ren Gjær, men tillige en stor Del af Udlandets. I Frankrig var det Louis Marx, som tog Sagen i sin Haand; uden hans Indgriben vilde Fremskridtet næppe have afsat et eneste Spor i dette Land.

I de sidste Par Aar har jeg erholdt flere dygtige Medarbejdere iblandt de udenlandske Kemikere og Botanikere, som studerede under min Vejledning her paa Laboratoriet.

Gamle Carlsberg var altsaa det Bryggeri, der gik i Spidsen, og siden 1884 har det ligesom Ny-Carlsberg og flere andre Bryggerier baseret hele Driften paa mine rendyrkede Gjærarter. Gjærkarrene paa Gl. Carlsberg rumme 9000 Hektoliter Urt, og Paasætningsgjæren dertil er c. 2500 Klgr. Hermed produceres aarlig 200,000 Hektoliter Lager- og Exportøl. Produktionen paa Ny-Carlsberg er kun lidet mindre. De Værdier, hvorom Talen her er, beløbe sig altsaa hvert Aar til flere Millioner Kroner. Den allerstørste Del af denne Ølmængde er fremstillet ved Hjælp af een Art, nemlig den foran nævnte Carlsberg Undergjær Nr. 1; den mindre Rest med en anden ligeledes rendyrket Art, nemlig Carlsberg Undergjær Nr. 2.

Jeg har draget disse Talstørrelser frem for at vise, at der ikke er Tale om Bagateller eller om Forsøg i det Smaa, men derimod om fastslaaede Resultater i en stor Industri.

Kaste vi et Blik paa den Udbredelse, Reformen for nærværende Tid har naaet, saa finde vi, at den har fundet sin Vej til alle ølbryggende Lande; almindelig anvendt, endsige almindelig anerkjendt

er den dog endnu ikke, hvis saa var, vilde nærværende Afhandling ogsaa idetmindste tildels være overflødig.

I Danmark og Norge arbejde alle de større og ansete Bryggerier derefter. I Sverige er Begyndelsen gjort; det Samme gjælder om Finland, Bøhmen og de andre østerrigske Lande, Schweitz, Nord-Italien, Frankrig, Belgien og Nordamerika. Almindelig udbredt og som fast Led i Driften af mange ansete Bryggerier findes den foruden i Danmark og Norge især i Rusland, Holland og Tydskland, navnlig i Bayern.

Fra Gl. Carlsberg er der ogsaa sendt rendyrket Gjær til Bryggerier i Asien, og fra Jørgensens Laboratorium saavel til Asien som til Australien og Sydamerika. Om Forsøgene ligeledes i disse fjerntliggende Egne sloge Rod, ved jeg endnu ikke. Der er bestandig kun Tale om Undergjæringsbryggerier.

Af det Foregaaende vil det allerede være indlysende, at mit System bringer betydelige praktiske Fordele med sig. Skulle vi nøjere angive, hvori de bestaa, vise de sig at være følgende:

Man sikrer sig et bestemt Resultat, en rationel Drift, hvor Alt tidligere mere eller mindre var baseret paa Slumpetræf.

Man sikrer sig imod Sygdomme i Øllet, som kunne foraarsage store Pengetab.

Man erholder en Gjær, der i Handelen med Paasætningsgjær har større Pengeværdi end den sædvanlige urene.

Og endelig bidrager man derved til, at Industrien hæves, noget, der i hvert Fald for den intelligente Praktiker altid maa have stor Interesse.

Et Fortrin ved disse Forbedringer er endvidere dette, at de ingen særlige Udgifter medføre, og at de derfor ogsaa ere tilgængelige for de mindre Fabrikker. Paa en heldig Maade adskille de sig herved fra, hvad der f. Ex. finder Sted, naar et Bryggeri gaar over til at anvende Ismaskiner i sin Drift.

At mit Arbejde paa mange Steder vilde blive misforstaaet og anvendt paa urette Maade, var let at forudse. Dette er ogsaa sket. Særlig Opmærksomhed har jeg derfor henvendt i den Retning og nøje optegnet de Tilfælde, jeg erfarede. I det Foredrag, som jeg 12 Juni 1887 holdt ved den østerrigske Bryggeriforenings Generalforsamling i Graz, dvælede jeg navnlig derved. Hvad jeg her meddeler derom, er et Udtog deraf med nogle Tilføjelser og nogle faa Ændringer. Det er altsaa om Misforstaaelserne og Fejlgrebene, vi skulle tale for om muligt tilsidst at komme ud derover.

En Misforstaaelse er det at tro, at den rene Gjær kan gjøre Alt. Det maa tvertimod fremhæves, at Fordringerne til Malten og

Urten o. s. v. blive de samme som tidligere. Begaar man Synder i disse Retninger, vil Øllet, selv om man anvender ren Gjær, dog blive mangelfuldt.

En Renkultur, som en Gang er indført i et Bryggeri, kan ikke i det Uendelige holde sig tilstrækkelig ren. Urten fra de aabne Svalebakker bringer navnlig i Sommer- og Efteraarsmaanederne Infektion af Bakterier og vilde Gjærarter med sig, det Samme gjælder om den mere eller mindre urene Luft, som især findes i Gjærkjældere, hvor man arbejder uden Luftrensning og uden Ismaskiner, ogsaa Redskaberne og Arbejderne selv føre let Smitte med sig. Om end en ren Gjær uden Fare kan benyttes en længere Tid end en uren under lige Forhold, kommer der altsaa bestandig et Tidspunkt, hvor det er nødvendigt at indføre en ny Renkultur. Hvornaar dette maa ske, kan kun med Sikkerhed bestemmes ved Hjælp af en Analyse. De lokale Forhold og Aarstiderne spille her en stor Rolle; en for alle Bryggerier og for alle Tilfælde gjældende Regel gives ikke; ogsaa maa det erindres, at de forskjellige Øl-Undergjærarter ikke ere i Besiddelse af den samme Modstandskraft overfor de ubudne Konkurrenter.

Mine Modstandere have grebet dette og overdrevet Betydningen deraf. Man har saaledes sagt, at den rene Gjær, efterat være kommen i Urten fra Svalebakkerne, strax blev bragt tilbage til sin tidligere urene Tilstand, og at Rendyrkningen derfor ingen Nytte var til. Det er rigtigt, at den strax inficeres, men aldeles urigtigt, at den i kort Tid som Regel skulde blive i den Grad inficeret, at den derved blev ubrugelig. Selv under meget uheldige Forhold gjør den rene Gjær bestandig sin Nytte og er altid at foretrække for den urene. Som Exempel kan jeg her meddele, at den Gjærart, som vi paa Gl. Carlsberg kalde Nr. 1, holdt sig tilstrækkelig ren i det nævnte Bryggeri 6—8 Maaneder, og den anden der benyttede Gjærart, Nr. 2, som hører til de lidet modstandsdygtige, i 2—4 Maaneder. Dette fandt Sted paa den Tid, da al Urten til Gjærkarrene endnu toges fra sædvanlige aabne Svalebakker. Her tænkes overhovedet kun paa Forholdene, som de ere i det store Flertal af Bryggerier; men i det Følgende omtales Apparater og Indretninger, hvorved saa at sige al Infektion forhindres.

En Indvending, som ofte er bleven rettet mod mine Bestræbelser, er denne: I et Bryggeri har man paa en Tid, hvor Alt gik godt med den gamle urene Gjær, indført en Renkultur til Prøve og nu nøje anstillet Sammenligning mellem Øllet, som de to Slags Gjær frembragte. Resultatet blev da, at der egentlig Intet var vundet ved den nye Gjær. Hvorfor altsaa ikke blive ved den

gamle Methode? Ja, hvis der virkelig var Methode deri, kunde det være godt nok, men det er netop det, der mangler. Bryggerne kunne, som anført, derigjennem aldrig faa Sikkerhed, men ere prisgivne store Svingninger og ukjendte Farer. Sikkerheden, en rationel Drift, det er det eneste Nye, den rene Gjær bringer. En fuldstændig Misforstaaelse er det at mene, at den skulde kunne give et bedre Produkt end det, som Bryggeren i det heldigste Tilfælde kan erholde med sin gamle urene Gjær. Hvis den rene Gjær er rigtig valgt, giver den netop dette, og modsat den urene, giver den det altid, saalænge den dyrkes nogenlunde under de samme Forhold.

En og samme Gjærart passer ikke til alle Bryggerier. Det har nemlig, som allerede berørt, ikke blot vist sig, at Kulturgjæren bestaar af forskjellige Arter eller Racer, men tillige at disse give Øl af forskjellig Beskaffenhed, forskjellig Holdbarhed, forskjellig Smag, og at de arbejde paa en noget forskjellig Maade i Gjær- og Lagerkjælderen. Hvert enkelt Bryggeri maa derfor planmæssig udvælge en saadan Art, som passer for dets Drift, og det er netop et af de væsentligste Fremskridt, som mine Arbejder have bragt, at Saadant nu med Sikkerhed kan udføres. At der findes Arter, som passe for et større Antal Bryggerier, har Erfaringen dog allerede lært. Saadanne bør de zymotekniske Laboratorier særlig opbevare som Stamformer. For vidt vilde man gaa, hvis det kom dertil, at hvert Bryggeri skulde have sin særegne Gjærart. Der er for Øjeblikket en Tendens i den Retning, og derfor har jeg ment at burde advare derimod.

En rendyrket Gjærart, udskilt af en almindelig uren Bryggerigjær, altsaa tagen fra en Blanding af i Reglen flere forskjellige Gjærarter, giver ikke nøjagtig det samme Produkt som Blandingen. I Smagen vil der navnlig næsten altid være en lille og undertiden ret kjendelig Forskjel. Det er saaledes en Misforstaaelse, naar flere Bryggere have ment, at den rendyrkede Gjærart skulde give dem Øl af nøjagtig samme Smag som det Øl, fra hvis urene Gjær vedkommende Gjærart oprindelig blev udskilt. De faa et finere og fremfor Alt et konstant Produkt, men et, der er noget forskjelligt fra det tidligere. Denne Kjendsgjerning kan ikke stærkt nok blive fremhævet. Et stort praktisk Fejlgreb er det derfor, naar Bryggeren pludselig, paa een Gang i hele sin Drift indfører den rene Gjær. Hans Øl vil nemlig da let brat faa en anden Karakter, hvilket hos flere Kunder kan vække Uvillighed. For-

Overgjæringsbryggerier, hvor der fremstilles mindre alkoholrige Ølsorter uden egentlig Eftergjæring, har A. Jørgensen derimod siden 1884 med Held anvendt Methoden med nogle Tillæmpninger; fornylig er dette ogsaa, ifølge hans mundtlige Meddelelser, sket i et Par udenlandske Bryggerier, der væsentlig arbejde paa samme Maade som de engelske.

Det var navnlig ved Jacobsens Autoritet, at mine praktiske Forsøg i meget kort Tid bleve bekjendte saavel herhjemme som i Udlandet; dog bleve de som Regel selv af intelligente Bryggere betragtede med Mistillid. Denne Modstand vilde have kunnet forhindre Sagens Fremme i flere Aar, hvis ikke Aubry strax fra Begyndelsen af med Kraft og Dygtighed havde arbejdet derfor. Ham tilkommer Æren for at have banet Vejen for denne Reform i Tydskland. I Bøhmen var det senere Belohoubek, som gjorde Begyndelsen, i Norge Hejberg. Herhjemme bleve mine Bestræbelser støttede af A. Jørgensen og Grønlund. Jørgensens Laboratorium har navnlig udfoldet en betydelig Virksomhed. Ikke blot ere talrige skandinaviske Bryggerier derfra blevne forsynede med ren Gjær, men tillige en stor Del af Udlandets. I Frankrig var det Louis Marx, som tog Sagen i sin Haand; uden hans Indgriben vilde Fremskridtet næppe have afsat et eneste Spor i dette Land.

I de sidste Par Aar har jeg erholdt flere dygtige Medarbejdere iblandt de udenlandske Kemikere og Botanikere, som studerede under min Vejledning her paa Laboratoriet.

Gamle Carlsberg var altsaa det Bryggeri, der gik i Spidsen, og siden 1884 har det ligesom Ny-Carlsberg og flere andre Bryggerier baseret hele Driften paa mine rendyrkede Gjærarter. Gjærkarrene paa Gl. Carlsberg rumme 9000 Hektoliter Urt, og Paasætningsgjæren dertil er c. 2500 Klgr. Hermed produceres aarlig 200,000 Hektoliter Lager- og Exportøl. Produktionen paa Ny-Carlsberg er kun lidet mindre. De Værdier, hvorom Talen her er, beløbe sig altsaa hvert Aar til flere Millioner Kroner. Den allerstørste Del af denne Ølmængde er fremstillet ved Hjælp af een Art, nemlig den foran nævnte Carlsberg Undergjær Nr. 1; den mindre Rest med en anden ligeledes rendyrket Art, nemlig Carlsberg Undergjær Nr. 2.

Jeg har draget disse Talstørrelser frem for at vise, at der ikke er Tale om Bagateller eller om Forsøg i det Smaa, men derimod om fastslaaede Resultater i en stor Industri.

Kaste vi et Blik paa den Udbredelse, Reformen for nærværende Tid har naaet, saa finde vi, at den har fundet sin Vej til alle ølbryggende Lande; almindelig anvendt, endsige almindelig anerkjendt

er den dog endnu ikke, hvis saa var, vilde nærværende Afhandling ogsaa idetmindste tildels være overflødig.

I Danmark og Norge arbejde alle de større og ansete Bryggerier derefter. I Sverige er Begyndelsen gjort; det Samme gjælder om Finland, Bøhmen og de andre østerrigske Lande, Schweitz, Nord-Italien, Frankrig, Belgien og Nordamerika. Almindelig udbredt og som fast Led i Driften af mange ansete Bryggerier findes den foruden i Danmark og Norge især i Rusland, Holland og Tydskland, navnlig i Bayern.

Fra Gl. Carlsberg er der ogsaa sendt rendyrket Gjær til Bryggerier i Asien, og fra Jørgensens Laboratorium saavel til Asien som til Australien og Sydamerika. Om Forsøgene ligeledes i disse fjerntliggende Egne sloge Rod, ved jeg endnu ikke. Der er bestandig kun Tale om Undergjæringsbryggerier.

Af det Foregaaende vil det allerede være indlysende, at mit System bringer betydelige praktiske Fordele med sig. Skulle vi nøjere angive, hvori de bestaa, vise de sig at være følgende:

Man sikrer sig et bestemt Resultat, en rationel Drift, hvor Alt tidligere mere eller mindre var baseret paa Slumpetræf.

Man sikrer sig imod Sygdomme i Øllet, som kunne foraarsage store Pengetab.

Man erholder en Gjær, der i Handelen med Paasætningsgjær har større Pengeværdi end den sædvanlige urene.

Og endelig bidrager man derved til, at Industrien hæves, noget, der i hvert Fald for den intelligente Praktiker altid maa have stor Interesse.

Et Fortrin ved disse Forbedringer er endvidere dette, at de ingen særlige Udgifter medføre, og at de derfor ogsaa ere tilgængelige for de mindre Fabrikker. Paa en heldig Maade adskille de sig herved fra, hvad der f. Ex. finder Sted, naar et Bryggeri gaar over til at anvende Ismaskiner i sin Drift.

At mit Arbejde paa mange Steder vilde blive misforstaaet og anvendt paa urette Maade, var let at forudse. Dette er ogsaa sket. Særlig Opmærksomhed har jeg derfor henvendt i den Retning og nøje optegnet de Tilfælde, jeg erfarede. I det Foredrag, som jeg 12 Juni 1887 holdt ved den østerrigske Bryggeriforenings Generalforsamling i Graz, dvælede jeg navnlig derved. Hvad jeg her meddeler derom, er et Udtog deraf med nogle Tilføjelser og nogle faa Ændringer. Det er altsaa om Misforstaaelserne og Fejlgrebene, vi skulle tale for om muligt tilsidst at komme ud derover.

En Misforstaaelse er det at tro, at den rene Gjær kan gjøre Alt. Det maa tvertimod fremhæves, at Fordringerne til Malten og

Urten o. s. v. blive de samme som tidligere. Begaar man Synder i disse Retninger, vil Øllet, selv om man anvender ren Gjær, dog blive mangelfuldt.

En Renkultur, som en Gang er indført i et Bryggeri, kan ikke i det Uendelige holde sig tilstrækkelig ren. Urten fra de aabne Svalebakker bringer navnlig i Sommer- og Efteraarsmaanederne Infektion af Bakterier og vilde Gjærarter med sig, det Samme gjælder om den mere eller mindre urene Luft, som især findes i Gjærkjældere, hvor man arbejder uden Luftrensning og uden Ismaskiner, ogsaa Redskaberne og Arbejderne selv føre let Smitte med sig. Om end en ren Gjær uden Fare kan benyttes en længere Tid end en uren under lige Forhold, kommer der altsaa bestandig et Tidspunkt, hvor det er nødvendigt at indføre en ny Renkultur. Hvornaar dette maa ske, kan kun med Sikkerhed bestemmes ved Hjælp af en Analyse. De lokale Forhold og Aarstiderne spille her en stor Rolle; en for alle Bryggerier og for alle Tilfælde gjældende Regel gives ikke; ogsaa maa det erindres, at de forskjellige Øl-Undergjærarter ikke ere i Besiddelse af den samme Modstandskraft overfor de ubudne Konkurrenter.

Mine Modstandere have grebet dette og overdrevet Betydningen deraf. Man har saaledes sagt, at den rene Gjær, efterat være kommen i Urten fra Svalebakkerne, strax blev bragt tilbage til sin tidligere urene Tilstand, og at Rendyrkningen derfor ingen Nytte var til. Det er rigtigt, at den strax inficeres, men aldeles urigtigt, at den i kort Tid som Regel skulde blive i den Grad inficeret, at den derved blev ubrugelig. Selv under meget uheldige Forhold gjør den rene Gjær bestandig sin Nytte og er altid at foretrække for den urene. Som Exempel kan jeg her meddele, at den Gjærart, som vi paa Gl. Carlsberg kalde Nr. 1, holdt sig tilstrækkelig ren i det nævnte Bryggeri 6—8 Maaneder, og den anden der benyttede Gjærart, Nr. 2, som hører til de lidet modstandsdygtige, i 2—4 Maaneder. Dette fandt Sted paa den Tid, da al Urten til Gjærkarrene endnu toges fra sædvanlige aabne Svalebakker. Her tænkes overhovedet kun paa Forholdene, som de ere i det store Flertal af Bryggerier; men i det Følgende omtales Apparater og Indretninger, hvorved saa at sige al Infektion forhindres.

En Indvending, som ofte er bleven rettet mod mine Bestræbelser, er denne: I et Bryggeri har man paa en Tid, hvor Alt gik godt med den gamle urene Gjær, indført en Renkultur til Prøve og nu nøje anstillet Sammenligning mellem Øllet, som de to Slags Gjær frembragte. Resultatet blev da, at der egentlig Intet var vundet ved den nye Gjær. Hvorfor altsaa ikke blive ved den

gamle Methode? Ja, hvis der virkelig var Methode deri, kunde det være godt nok, men det er netop det, der mangler. Bryggerne kunne, som anført, derigjennem aldrig faa Sikkerhed, men ere prisgivne store Svingninger og ukjendte Farer. Sikkerheden, en rationel Drift, det er det eneste Nye, den rene Gjær bringer. En fuldstændig Misforstaaelse er det at mene, at den skulde kunne give et bedre Produkt end det, som Bryggeren i det heldigste Tilfælde kan erholde med sin gamle urene Gjær. Hvis den rene Gjær er rigtig valgt, giver den netop dette, og modsat den urene, giver den det altid, saalænge den dyrkes nogenlunde under de samme Forhold.

En og samme Gjærart passer ikke til alle Bryggerier. Det har nemlig, som allerede berørt, ikke blot vist sig, at Kulturgjæren bestaar af forskjellige Arter eller Racer, men tillige at disse give Øl af forskjellig Beskaffenhed, forskjellig Holdbarhed, forskjellig Smag, og at de arbejde paa en noget forskjellig Maade i Gjær- og Lagerkjælderen. Hvert enkelt Bryggeri maa derfor planmæssig udvælge en saadan Art, som passer for dets Drift, og det er netop et af de væsentligste Fremskridt, som mine Arbejder have bragt, at Saadant nu med Sikkerhed kan udføres. At der findes Arter, som passe for et større Antal Bryggerier, har Erfaringen dog allerede lært. Saadanne bør de zymotekniske Laboratorier særlig opbevare som Stamformer. For vidt vilde man gaa, hvis det kom dertil, at hvert Bryggeri skulde have sin særegne Gjærart. Der er for Øjeblikket en Tendens i den Retning, og derfor har jeg ment at burde advare derimod.

En rendyrket Gjærart, udskilt af en almindelig uren Bryggerigjær, altsaa tagen fra en Blanding af i Reglen flere forskjellige Gjærarter, giver ikke nøjagtig det samme Produkt som Blandingen. I Smagen vil der navnlig næsten altid være en lille og undertiden ret kjendelig Forskjel. Det er saaledes en Misforstaaelse, naar flere Bryggere have ment, at den rendyrkede Gjærart skulde give dem Øl af nøjagtig samme Smag som det Øl, fra hvis urene Gjær vedkommende Gjærart oprindelig blev udskilt. De faa et finere og fremfor Alt et konstant Produkt, men et, der er noget forskjelligt fra det tidligere. Denne Kjendsgjerning kan ikke stærkt nok blive fremhævet. Et stort praktisk Fejlgreb er det derfor, naar Bryggeren pludselig, paa een Gang i hele sin Drift indfører den rene Gjær. Hans Øl vil nemlig da let brat faa en anden Karakter, hvilket hos flere Kunder kan vække Uvillighed. For-

andringen maa gjennemføres lidt efter lidt, og der sker da ikke Andet, end hvad der tidligere til Stadighed fandt Sted i ethvert Bryggeri. Naar den er vel indført, har man derved opnaaet et stort Gode. Disse Forhold har den afdøde Ejer af Gl. Carlsberg, Kapt. Jacobsen, paa en klar og indtrængende Maade fremhævet i sine Artikler om denne Sag, men desuagtet træde Misforstaaelserne og Fejlgrebene frem hver Dag.

Man kunde nu spørge mig, om man ikke ved at anvende Blandinger af en i Forvejen nøjagtig kjendt Sammensætning kunde indvirke paa Øllets Smag og herved erholde Variationer, som maaske kunde vinde Indgang hos Publikum. At Saadant ogsaa nu rationelt kan gjennemføres, er selvfølgeligt. Til Kulturgjæren sætter man da f. Ex. en vild Gjærart, der, som min Sacch. Pastorianus II, ikke fremkalder Sygdom. I nogle Tilfælde vil man kunne foretage denne Indblanding i selve Paasætningsgjæren, i andre derimod først ved Hovedgjæringens Slutning. Ogsaa har man det i sin Magt at fremstille garanterede Blandinger af forskjellige Bryggeri-Undergjærarter.

Men anbefale disse Blandinger, om de endog gjennem paalidelige Analyser ere fuldstændig garanterede, kan jeg ikke. Idealet for al Fabrikation er at arbejde saa simpelt og sikkert som muligt, og det er en afgjort Sag, at man lettere kan beherske een end flere Faktorer, selv om de alle ere fuldstændig kjendte.

Ved den franske Bryggeriudstilling i Paris 1887 holdt den fra Pasteurs Études sur la bière bekjendte Brygger Velten nogle Forelæsninger om Dyrkningen af Bryggerigjær. De ere fornylig offentliggjorte i Revue universelle de la Brasserie et Malterie Nr. 742 og 743.

Efter at have paavist den væsentlige Forskjel, der er mellem Pasteurs og min Methode, gjennemgaar han hver for sig og kommer herved til det Resultat, at Pasteurs absolut er at foretrække. Ved efter Pasteur at dyrke en almindelig Bryggerigjær i en Sukkeropløsning med Vinsyre eller i Ølurt, hvortil der er sat Karbolsyre og Vinaand, undertrykkes Bakterierne, og man erholder idetmindste i mange Tilfælde en Gjær tilbage, bestaaende af forskjellige Gjærarter, dels Kulturgjær, dels vild Gjær. Om Forholdet imellem disse behøver man ikke at bekymre sig, ligesaa lidt om, hvilke Arter de tilhøre; det er nok, at Bakterierne ere forsvundne. Min Lære, at visse Saccharomyces-Arter fremkalde Sygdomme i Øllet, gjælder ikke for Velten, og han fremhæver imod mig, at det er nødvendigt, at Bryggerigjæren skal bestaa af flere

Arter, hvis man vil erholde Aroma og Bouquet i Øllet. Som en Følge heraf mener han, at jeg har begaaet en Fejl ved at gaa ud fra eet eneste Species. Han meddeler, at man i Tydskland, særlig i Berlin, har fundet, at mine Reformbestræbelser bero paa en Fejltagelse, og at jeg selv i den nyeste Tid skal have erkjendt dette og derfor være vendt tilbage til Pasteurs gamle Fremgangsmaade.

De, som have fulgt min forangaaende Fremstilling, ville have set, at Velten befinder sig i en fuldstændig Vildfarelse. Ligesom fra Begyndelsen arbejder jeg ogsaa nu bestandig med een udvalgt Gjærart, og i Stedet for at tabe Tilhængere vinder mit System tvertimod uafbrudt flere. Fornylig har jeg ogsaa havt den Tilfredsstillelse at erfare, at det er blevet indført i de to største Bryggerier i Berlin selv og godkjendt af mine tidligere Modstandere i den derværende kgl. Landbohøjskole.

Mærkelig nok synes Velten at have overset, at Pasteur selv erklærer den af mig angivne Vej at være den rigtige (Bulletin de la société d'encouragement pour l'industrie nationale. Paris, Janvier 1887, p. 45).

Hr. Velten vil maaske kunne sætte igjennem, at Frankrig bliver et af de Lande, der sidst kommer med paa Fremskridtets Bane; men herved vil han ikke opnaa det, han dog sikkert ønsker, at gavne sit Fødeland.

Som ethvert Fremskridt, der skal føres ud i Livet for der at bekæmpe en gammel uheldig Praxis, har altsaa ogsaa dette havt sin Brydningstid. Modstanden er imidlertid i de sidste Par Aar bestandig bleven svagere. Takken herfor skyldes især mine dygtige Medarbejdere herhjemme og i Udlandet. Gjennemgribende Forbedringer ere vel ikke indførte siden 1884; en ikke ringe praktisk Betydning har dog det af Bryggeridirektør Kapt. Kühle og mig i Forening konstruerede Rendyrkningsapparat faaet. Herved sættes man nemlig i Stand til med korte Mellemrum at sende store Masser af rendyrket Gjær ud i Driften. En udførlig Beskrivelse deraf findes i det næste Kapitel.

En Forbedring, som ogsaa staar i nøje Forhold til Anvendelsen af mine rendyrkede Gjærarter, indførte afdøde J. C. Jacobsen i 1885 paa Gl. Carlsberg. Han opstillede nemlig da et Apparat, i hvilket den fra Bryggeriet kommende koghede Urt kan nedsvales og luftes uden at komme i Berøring med de i Luftens Støv værende Mikroorganismer. Det er en Modifikation af det saakaldte Veltenske Apparat; senere har Kapt. Kühle indført nye For-

andringen maa gjennemføres lidt efter lidt, og der sker da ikke Andet, end hvad der tidligere til Stadighed fandt Sted i ethvert Bryggeri. Naar den er vel indført, har man derved opnaaet et stort Gode. Disse Forhold har den afdøde Ejer af Gl. Carlsberg, Kapt. Jacobsen, paa en klar og indtrængende Maade fremhævet i sine Artikler om denne Sag, men desuagtet træde Misforstaaelserne og Fejlgrebene frem hver Dag.

Man kunde nu spørge mig, om man ikke ved at anvende Blandinger af en i Forvejen nøjagtig kjendt Sammensætning kunde indvirke paa Øllets Smag og herved erholde Variationer, som maaske kunde vinde Indgang hos Publikum. At Saadant ogsaa nu rationelt kan gjennemføres, er selvfølgeligt. Til Kulturgjæren sætter man da f. Ex. en vild Gjærart, der, som min Sacch. Pastorianus II, ikke fremkalder Sygdom. I nogle Tilfælde vil man kunne foretage denne Indblanding i selve Paasætningsgjæren, i andre derimod først ved Hovedgjæringens Slutning. Ogsaa har man det i sin Magt at fremstille garanterede Blandinger af forskjellige Bryggeri-Undergjærarter.

Men anbefale disse Blandinger, om de endog gjennem paalidelige Analyser ere fuldstændig garanterede, kan jeg ikke. Idealet for al Fabrikation er at arbejde saa simpelt og sikkert som muligt, og det er en afgjort Sag, at man lettere kan beherske een end flere Faktorer, selv om de alle ere fuldstændig kjendte.

Ved den franske Bryggeriudstilling i Paris 1887 holdt den fra Pasteurs Études sur la bière bekjendte Brygger Velten nogle Forelæsninger om Dyrkningen af Bryggerigjær. De ere fornylig offentliggjorte i Revue universelle de la Brasserie et Malterie Nr. 742 og 743.

Efter at have paavist den væsentlige Forskjel, der er mellem Pasteurs og min Methode, gjennemgaar han hver for sig og kommer herved til det Resultat, at Pasteurs absolut er at foretrække. Ved efter Pasteur at dyrke en almindelig Bryggerigjær i en Sukkeropløsning med Vinsyre eller i Ølurt, hvortil der er sat Karbolsyre og Vinaand, undertrykkes Bakterierne, og man erholder idetmindste i mange Tilfælde en Gjær tilbage, bestaaende af forskjellige Gjærarter, dels Kulturgjær, dels vild Gjær. Om Forholdet imellem disse behøver man ikke at bekymre sig, ligesaa lidt om, hvilke Arter de tilhøre; det er nok, at Bakterierne ere forsvundne. Min Lære, at visse Saccharomyces-Arter fremkalde Sygdomme i Øllet, gjælder ikke for Velten, og han fremhæver imod mig, at det er nødvendigt, at Bryggerigjæren skal bestaa af flere

Arter, hvis man vil erholde Aroma og Bouquet i Øllet. Som en Følge heraf mener han, at jeg har begaaet en Fejl ved at gaa ud fra eet eneste Species. Han meddeler, at man i Tydskland, særlig i Berlin, har fundet, at mine Reformbestræbelser bero paa en Fejltagelse, og at jeg selv i den nyeste Tid skal have erkjendt dette og derfor være vendt tilbage til Pasteurs gamle Fremgangsmaade.

De, som have fulgt min forangaaende Fremstilling, ville have set, at Velten befinder sig i en fuldstændig Vildfarelse. Ligesom fra Begyndelsen arbejder jeg ogsaa nu bestandig med een udvalgt Gjærart, og i Stedet for at tabe Tilhængere vinder mit System tvertimod uafbrudt flere. Fornylig har jeg ogsaa havt den Tilfredsstillelse at erfare, at det er blevet indført i de to største Bryggerier i Berlin selv og godkjendt af mine tidligere Modstandere i den derværende kgl. Landbohøjskole.

Mærkelig nok synes Velten at have overset, at Pasteur selv erklærer den af mig angivne Vej at være den rigtige (Bulletin de la société d'encouragement pour l'industrie nationale. Paris, Janvier 1887, p. 45).

Hr. Velten vil maaske kunne sætte igjennem, at Frankrig bliver et af de Lande, der sidst kommer med paa Fremskridtets Bane; men herved vil han ikke opnaa det, han dog sikkert ønsker, at gavne sit Fødeland.

Som ethvert Fremskridt, der skal føres ud i Livet for der at bekæmpe en gammel uheldig Praxis, har altsaa ogsaa dette havt sin Brydningstid. Modstanden er imidlertid i de sidste Par Aar bestandig bleven svagere. Takken herfor skyldes især mine dygtige Medarbejdere herhjemme og i Udlandet. Gjennemgribende Forbedringer ere vel ikke indførte siden 1884; en ikke ringe praktisk Betydning har dog det af Bryggeridirektør Kapt. Kühle og mig i Forening konstruerede Rendyrkningsapparat faaet. Herved sættes man nemlig i Stand til med korte Mellemrum at sende store Masser af rendyrket Gjær ud i Driften. En udførlig Beskrivelse deraf findes i det næste Kapitel.

En Forbedring, som ogsaa staar i nøje Forhold til Anvendelsen af mine rendyrkede Gjærarter, indførte afdøde J. C. Jacobsen i 1885 paa Gl. Carlsberg. Han opstillede nemlig da et Apparat, i hvilket den fra Bryggeriet kommende koghede Urt kan nedsvales og luftes uden at komme i Berøring med de i Luftens Støv værende Mikroorganismer. Det er en Modifikation af det saakaldte Veltenske Apparat; senere har Kapt. Kühle indført nye For-

bedringer derved[1]). Flere Aar i Forvejen havde den foran nævnte Brygger Velten i Marseille konstrueret et lignende, men en virkelig praktisk Betydning fik det hidtil ikke, thi det Væsentligste manglede. Hvad kunde det nemlig hjælpe at have en steril Urt, naar Gjæren, som man anbragte deri, var uren af Sygdomskim! Først da Gjærspørgsmaalet var løst, fik ogsaa Spørgsmaalet om Afskaffelsen af Svalebakkerne sin virkelige Berettigelse, og først da indførte Jacobsen de ovenfor berørte Apparater. Et Apparat efter det samme Princip som foregaaende, men ellers i flere Retninger forskjelligt derfra, har Hr. C. Jacobsen i den nyeste Tid opstillet paa Ny-Carlsberg. Nu er Tidspunktet kommet, og der er derfor ingen Tvivl om, at denne Forbedring efterhaanden vil holde sit Indtog i mange af de Bryggerier, hvor den rene Gjær har staaet sin Prøve, og saaledes tjene til at fuldstændiggjøre det nye System.

I den foregaaende Fremstilling er der bestandig tænkt paa Undergjæringsbryggerier; mine praktiske Arbejder have nemlig hidtil kun bevæget sig paa dette Omraade; at de dog ogsaa med passende Tillæmpninger ville kunne anvendes i de øvrige Grene af Gjæringsindustrien er sandsynligt, og hvad de danske Overgjærings-Bryggerier angaar, er det, som ovenfor berørt, allerede sket ved A. Jørgensen.

2. Den fabrikmæssige Fremstilling af rendyrket Gjær.

Forarbejderne.

Vi tage naturligt vort Udgangspunkt i selve Bryggeriet. Findes her en Gjær, som arbejder paa en tilfredsstillende Maade saavel under Hoved- som Eftergjæringen, og som, hvad der er det Vigtigste, giver et Produkt med de Egenskaber, vedkommende Brygger ønsker, da opstaar selvfølgelig Ønsket om at bevare den. I mange og maaske i de allerfleste Tilfælde vil Hovedmassen af en saadan Gjær bestaa af een Kultur-Art, og der vil kun findes en aldeles underordnet Indblanding af andre Mikroorganismer.

---

[1]) Om dette Apparat og dets Anvendelse se efterfølgende to Afhandlinger:

Just. Chr. Holm, Die Vorrichtungen in der Brauerei zur Kühlung und Lüftung der Würze. (Zeitschr. für das ges. Brauwesen, München 1887, Nr. 20). Anton Petersen, Einige Bemerkungen über das Lüften der Würze, (Sammesteds 1888, Nr. 3).

Under disse Omstændigheder skyldes Resultatet ogsaa væsentlig Kulturgjæren; den vil for sig alene give det ønskede Produkt.

Strax i Begyndelsen, da jeg tog fat paa praktiske Studier over Bryggeri-Undergjær og vild Gjær, gjorde jeg den Iagttagelse, at naar begge vare sammenblandede i Paasætningsgjæren, saa optraadte sidstnævnte i Overfladeøllet med et i Forhold til Kulturgjæren ringere Antal Celler ved Hovedgjæringens Begyndelse end ved dens Slutning. Førend den rene Gjær blev indført, havde jeg en rig Lejlighed til at iagttage dette i Gjærkarrene saavel paa Gamle- som paa Ny-Carlsberg. Senere erholdt jeg samme Resultat ved at anstille planmæssige Forsøg, dels i smaa Kar i en Gjærkjælder og dels i Kolber i Laboratoriet, med sædvanlig Ølurt som Næringsvædske og med i Forvejen bestemte Gjærblandinger af saavel Carlsberg Undergjær Nr. 1 som Nr. 2 og med mine tre Sygdomsgjærarter, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II. At det af mig saaledes paapegede Forhold er hyppigt i Bryggeridriften er hermed bevist, og meget taler for, at det muligvis endog kan opstilles som Regel. I et særligt Arbejde over Gjærarternes Konkurrenceforhold, hvortil en Del Undersøgelser ere gjorte, vil jeg maaske senere ogsaa kunne belyse dette Forhold nærmere. Hvad der er meddelt, giver en Forklaring af, hvorfor det, idetmindste i mange Tilfælde i Bryggerierne, viser sig at være en heldig Fremgangsmaade at benytte Urt, der netop er kommen i Gjæring, som Paasætningsgjær, i Stedet for, som det sædvanlig sker, at vente til Hovedgjæringens Slutning for at tage den da opsamlede Bundgjær. Der er selvfølgelig dog ikke Tale om paa den Maade at opnaa en virkelig Renkultur.

Det er paa Grund af disse Iagttagelser, at jeg i mine Forelæsninger og Øvelser bestandig har angivet, at Proven til Analysen for vild Gjær helst tages ved Hovedgjæringens Slutning, og Prøven til Fremstilling af den ønskede Renkultur af Bryggerigjæren helst ved Hovedgjæringens Begyndelse, i begge Tilfælde fra Overfladeøllet i vedkommende Gjærkar. Denne Oplysning har faaet en ikke ringe praktisk Betydning.

Er den Bryggerigjær, hvoraf en Renkultur skal fremstilles, nogenlunde ren, vil man i Følge Ovenstaaende paa Gjæringens første Stadier have en Vegetation, som nærmer sig mere eller mindre til Renkulturen. Praktisk er det derfor til vort Forsøg at tage en Gjennemsnitsprøve fra Overfladen af Urten i et Gjæringskar, naar et svagt Skumdække netop har dannet sig, altsaa i Gjæringens Begyndelse. Forholdsvis let er det heraf at fremstille

en Renkultur af den Bryggerigjærart, der er i Overvægt, og som vi i Følge forangaaende Overvejelse jo netop ønske.

Er Bryggeriet langt fjernet fra vedkommende Laboratorium, vil det i Reglen være det Heldigste at begynde Arbejdet med almindelig Bundgjær, og hvis den ikke er svækket, kan den anvendes strax, som den er, i modsat Fald anstilles først en Gjæring dermed i en Kolbe med steriliseret Urt. Saasnart Gjæringen her er begyndt, tages da lidt af Vædsken for at benytte de deri svævende, nydannede Celler til Rendyrkningen. Ved disse Arbejder stræbe vi ikke blot efter at erholde Vegetationer, hvori den ønskede Art er i Overvægt, men tillige derefter, at dens Celler ere unge og kraftige. Dette Sidste har nemlig Hensyn til den Behandling, de blive underkastede under Arbejderne for at fremstille en Renkultur af dem. Methoden hertil har jeg tidligere beskrevet. (Se mine Afhandlinger i nærværende Tidsskrift 1882 og 1883, men navnlig 1886, p. 152).

I det Foregaaende blev det Tilfælde behandlet, at en enkelt Gjærart var i Overvægt i Gjærblandingen, hvorfra vi toge vort Udgangspunkt, og saaledes, at den fortrinsvis udførte det hele Arbejde og bestemte Produktets Karakter. Der forekommer imidlertid ogsaa Tilfælde i Bryggerierne, hvor ikke een Art, men hvor flere jævnbyrdes dele Herredømmet, og følgelig ogsaa i Forening afgjøre Resultatet. Under disse Omstændigheder vil en Renkultur af en af Arterne i Reglen give et Produkt af helt andre Egenskaber end Blandingen. De forskjellige Arter, hvoraf denne bestod, kunne vel hver for sig udskilles, og det er følgelig muligt til enhver Tid at fremstille Blandingen, med nogen Møje endog saaledes, at Arterne indtræde i de ønskede Forhold; men da vi ikke i Længden formaa at beherske disse, ville de, som have den største Kraft i den Konkurrence, der indtræder, trænge sig frem og herved øjeblikkelig fremkalde Forstyrrelser. Et konstant Produkt kan under disse Forhold kun erholdes med stor Vanskelighed, og Rendyrkningen har derfor her egentlig ingen praktisk Værdi. Vilde man endelig ind paa den Bane, maatte man lave hver enkelt Portion Paasætningsgjær tilrette for sig efter den en Gang for alle bestemte Regel. Som Bryggeriforholdene ere for Øjeblikket, kan jeg ikke tænke mig en saa omstændelig Fremgangsmaade gjennemført, og jeg har derfor ogsaa allerede i det foregaaende Kapitel raadet derfra.

Iblandt de Kulturarter, som man har udskilt af en saadan Blanding, vil man ofte finde flere, som ere værdifulde for Praxis. Om deres Egenskaber kan man dog Intet afgjøre, før de ere

prøvede. Og det maa da erindres, at Forsøgene med smaa Maal, som de kunne anstilles i Laboratoriet, kun give ringe Oplysning i den Retning; Prøven maa anstilles i Driften selv under de der herskende Forhold. Det tager altsaa i dette Tilfælde flere Maaneder, førend vi kunne erholde et Resultat.

Antage vi, at vor Rendyrkning er lykkedes, og at vi i en Kolbe have en kraftig Vegetation af den udvalgte Art, saa bør vi som Regel først sørge for at bevare den for kommende Tider. Forsigtighedshensyn byde os aldrig at lade os nøje med een Kolbe, vi henstille derfor en Reserve, saaledes at vi have Sikkerhed for, at der til enhver Tid er en levende og ren Vegetation tilstede.

I Kolber med Ølurt bevare de fleste Saccharomyces-Arter deres Liv i Aar og Dag ved almindelig Stuevarme, naar de ikke paavirkes af direkte Sollys; i nogle Tilfælde fandt jeg dog, at Døden indtraadte efter mindre end et Aars Forløb, og under Paavirkning af stærkt Sollys og af den dermed følgende høje Temperatur, som da, omend sædvanlig kun for kortere Tid, indtræder, dø de meget hurtigere. Man bør derfor opbevare disse Kulturer i et mørkt Skab, eller i hvert Fald i et, der kun er udsat for indirekte Lys. I Følge nogle Undersøgelser af Duclaux om Gjærcellers Levedygtighed i Ølurt kunde man antage, at denne Vædske i den nævnte Retning yder Alt, hvad man kan ønske sig; mine ovenfor omtalte Forsøg stemme imidlertid, som det ses, ikke aldeles dermed. Den bedste Opbevaringsvædske, jeg kjender, naar Talen er om flere Aars Henstand, er ikke Ølurt, men en vandig Opløsning af Saccharose; jeg plejer at anvende en 10 % Opløsning hertil. I denne har jeg endnu ikke iagttaget, at de deri udsaaede Celler ere bortdøde, dog ere nogle af mine Kulturer over 8 Aar gamle.

Den af mig angivne Opbevarings-Methode i steriliseret Filtrerpapir (se min Afhandling om Askosporedannelsen, nærværende Tidsskrift, II B. II H. 1883, p. 63) er meget praktisk, naar det gjælder om Forsendelser af smaa Gjærprøver, og bliver ogsaa hertil almindelig anvendt af de Laboratorier, der beskjæftige sig med Rendyrkning af Gjær fra Bryggerier, idet nemlig Prøverne fra disse indsendes paa denne Maade. Som Resultat af de Forsøg, jeg havde anstillet indtil Foraaret 1883, meddelte jeg i den ovenfor citerede Afhandling, at Gjærceller i Filtrerpapir i nogle Tilfælde bevare deres Livskraft i 20, i andre derimod kun i 5 Maaneder. Ved senere Forsøg saa jeg, at en fuldstændig Bortdøen ikke fandt Sted før efter henved 5 Maaneder, og at de allerfleste Arter ikke opnaa 2 Aars Liv under de angivne Forhold; kun een fandtes levende efter 2½ Aars Forløb. Forsøgene bleve anstillede med

unge, kraftige Celler, og Præparaterne laa i en Skuffe ved almindelig Stuevarme. Det erindres, at Gjæren efter denne Opbevaringsmethode anbringes i en Konvolut af Filtrerpapir. Paa denne Maade kan man imidlertid som Regel ikke bevare en Renkultur. Ønsker man dog hertil at anvende det samme Princip, kan det ske ved Hjælp af den af mig p. 302 beskrevne Kolbe med Bomuld.

I Følge de anførte Grunde ville Kolber med Saccharoseopløsning i Almindelighed være det bedste Opbevaringsmiddel, og vi se altsaa, at det ikke er forbundet med nogen Vanskelighed for de zymotekniske Laboratorier at have et helt Lager af de prøvede Kulturgjærarter, saaledes at Bryggerierne til enhver som helst Tid kunne faa dem, de ønske.

Min gamle Fremgangsmaade.

Have vi altsaa sikret os vor Renkultur til Brug for kommende Tider, skulle vi derefter gaa over til at fremstille den store Gjærmængde, som Bryggeriet kræver. Hertil anvendes følgende Apparater: 4—5 Pasteurske tohalsede Kolber, hver rummende c. $1^1/_4$ Liter, og 4 Metalkar som Fig. 2, hver paa 10 Liter.



Fig. 1.

Hosstaaende Fig. 1 viser os den Pasteurske Kolbe med en lille Ændring, idet det bøjede Rør nemlig har modtaget en Udvidelse. Herved yder den en endnu større Sikkerhed end tidligere. I en $^1/_8$ Liter Kolbe som Afbildningen have vi vor Renkultur; de større Kolber paa $1^1/_4$ Liter, som nu skulle bruges, maa dog hellere forsynes med et bøjet Rør, hvis Diameter i Udspringsstykket er forholdsvis større; i den Henseende kan jeg henvise til Fig. 8, *d*, p. 300. Forøvrigt anbefales den i Fig. 1 afbildede Model. Kolben staar paa en Korkbrix; det rette Rør er forsynet med en Kautschukslange, hvori der er anbragt en Glasprop; i det bøjede Rørs Munding findes en Asbestprop.

Metalkarret (Fig. 2) er lavet af fortinnet Kobber og bygget efter samme Princip som ovennævnte Glaskolbe.

Udspringsstykkerne af Rørene *a* og *b* fortsættes af Kautschukslanger, der paa sædvanlig Vis lukkes med Glaspropper; det nederste Rør, *b*, er desuden forsynet med en Klemme. Metalstykket af dette Rør gjøres saa kort som muligt, og Klemmen,

der lukker for Kautschukslangen, anbringes saa nær som muligt ved Rørets Munding. Fra Karrets øverste Parti udgaar det krumbøjede Rør, som ved *c* er delt i to Stykker, hvilke forbindes ved en Kautschukslange. Ved *d* er Rørets Munding lukket med en fast presset Bomuldsprop, der holdes fast af en Glashætte; *e* er den foran omtalte Udvidelse paa Røret til Sikring mod Infektion, navnlig kort efter Steriliseringen.

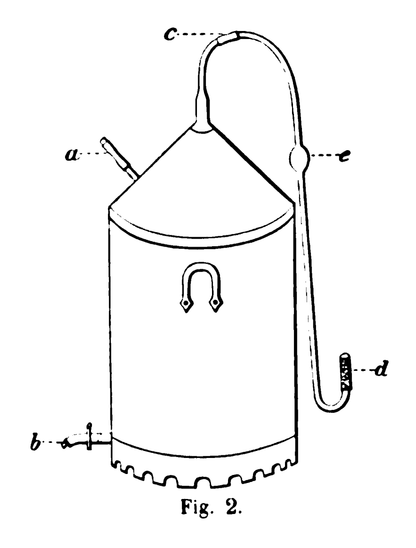
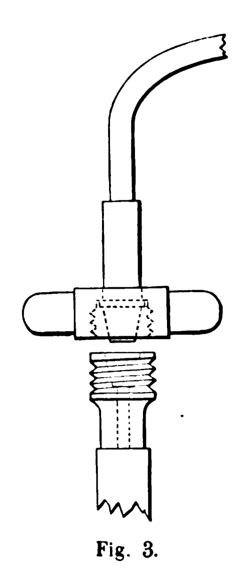


Fig. 2.

Den i Fig. 2 fremstillede Model viser det bøjede Rør i fast Forbindelse med selve Kolben. Man kan imidlertid ogsaa efter Assistent Poulsens Forslag forbinde det med Karrets Top ved Hjælp af en Bindeskrue med Løber og tilsleben Prop (Fig. 3). Proppen og den dertil svarende Fordybning ere ligesom Skruegangen indvendig i Løberen angivne ved punkterede Linier. Denne Ændring sætter os altsaa i Stand til at tage hele Røret af, naar Karret skal renses, og vi behøve her ikke Kautschukleddet (Fig. 2, *c*). Rensningen foregaar forøvrigt i begge Tilfælde med Lethed; det bliver derfor en Smagssag, hvilken Form man helst vil vælge. En Hovedfordring er det, at Karret overalt er fuldstændig tæt, saa at en Indsugning kun kan finde Sted gjennem det bøjede Rørs Munding.


Fig. 3.

Som Næringsvædske anvendes almindelig humlet Urt, som den fremstilles i Bryggerierne til Lagerøl; hermed fyldes Glaskolberne $^2/_3$. Den simpleste Maade, hvorpaa Sterilisering foretages, er ved Kogning paa Sandbad. Naar Vædsken er kommen godt i Kog, lukkes Kautschukslangen, som hidtil har været aaben, med Glasproppen, hvorpaa man en kort Tid lader Dampene strømme ud af det bøjede Rør, derefter stilles Kolben paa sin Brix, og Asbestproppen anbringes. Hvis man vil, kan man selvfølgelig

ogsaa sterilisere ved Hjælp af Damp. Ved den beskrevne Kogning opnaas ikke altid, at alle Kimene blive dræbte. Overføre vi f. Ex. Prøver fra en større Række af de saaledes behandlede Kolber i Næringsvædsker, der ere særlig gunstige for Udvikling af Bakterier, og stille disse Kulturer ind i en Thermostat ved 27—30° C., saa ville vi finde, at enkelte af vore Urtkolber have indeholdt levende Bakterier. Disse komme imidlertid ikke til Udvikling i den kogte Urt, og da vi hele Tiden kun skulle arbejde med den, faar den paapegede Mangel slet ingen Betydning[1]); praktisk taget, have vi i Virkeligheden en steril Vædske.

Steriliseringen af Urten i de store Metalkar er forbunden med noget større Vanskelighed end ovenfor blev beskrevet. Ofte hørte jeg fra Elever, som havde deltaget i mine Kursus, Klager over, at de ikke kunde arbejde med disse Kar; jeg giver derfor i det Følgende en udførlig Oplysning om Fremgangsmaaden: Efterat Karret er vel renset, fyldes c. 5 Liter Vand deri; derpaa koges det 1 Time med Røret *a* og ligeledes med det bøjede Rør aabent. Man lukker nu Kautschukslangen ved *a* med en flammerenset Glasprop og fortsætter Kogningen 15 Minutter, i hvilken Tid Dampene altsaa strømme gjennem det bøjede Rør; imedens dette sker, mindskes Gasblusset noget, for at Trykket ikke skal blive for stort. Kort forinden Blusset slukkes, aabnes for Røret *b*, for derigjennem at udtappe c. 100 Kub.-Centim. af det koghede Vand. Herved sikrer man sig, at dette Rør og dets Indhold blive steriliserede. Derpaa lukkes ligesom tidligere med Klemmen og Glasproppen, sidstnævnte opvarmer man dog først temmelig stærkt. Kogningen er hermed forbi, og der staar kun tilbage at presse Bomuldsfiltret *d* fast om det bøjede Rørs Aabning forneden.

Forinden Urten skal fyldes i Karret, maa Vandet naturligvis fjernes, idetmindste den største Del deraf. En Blanding af 7 Liter Urt og 1/2 Liter Vand vil være passende. Steriliseringen foregaar paa samme Maade som med Vandet; dog anvendes mod Slutningen en større Forsigtighed. Medens man af Røret *b* udtapper 100 Kub.-Cent. af den kogende Urt, og medens man i Løbet af 1/4 Time lader Dampene strømme gjennem det bøjede Rør, opvarmer man saaledes tillige sidstnævnte stærkt med et andet Gasblus end det,

[1]) Urten har overhovedet stor Modstandskraft overfor Bakterier; dette gjælder f. Ex. om flere af de i Drikkevand optrædende; se min Afhandling »Methode zur Analyse des Brauwassers in Rücksicht auf Mikroorganismen« (Zeitschr. für das ges. Brauwesen, München 1888, Nr. 1).

der anvendes til Kogningen, og Bomuldsfiltret (*d*) anbringes derefter med stor Omhu. Man maa, kort sagt, nøje sørge for, at den under Afkølingen indsugede store Luftmængde ikke skal føre levende Kim med sig ned i Vædsken. Vore Kar, som bleve behandlede paa den Maade, stode i Maaneder, uden at Vædsken blev angreben af Mikroorganismer.

Forinden de skulle tages i Brug, maa der gjennem Røret *b* udtages Prøver af hver enkelt; man opvarmer da det bøjede Rør, for at den under Vædskens Udstrømning indsugede Luft kan blive steriliseret.

Saalænge vi til vore Arbejder kunne nøjes med forholdsvis smaa Kolber, lave vi naturligvis disse af Glas. Uagtet dette Materiales Skrøbelighed frembyde de nemlig væsentlige Fordele derved, at de ved deres Gjennemsigtighed tilstede en Kontrol med blotte Øjne af den Vædske, som de indeslutte. Skal denne Kontrol imidlertid have nogen Betydning, saa maa Kolben ikke være større, end at vi udenfra med nogenlunde Sikkerhed kunne undersøge ethvert Parti af Vædsken og dens Bundfald. Med et Rumfang af 1—2 Liter vil denne Grændse, set fra det fremhævede Synspunkt, vistnok være naaet. Gjøre vi nemlig vore Glaskolber endnu større, kan Vædsken i dem godt indeholde smaa Kolonier af forskjellige Mikroorganismer, uden at vi kunne opdage dem, og Kolonier af en saadan Størrelse, som vi, hvis de havde været tilstede i de mindre Kolber med deres forholdsvis ringe Vædskelag, strax vilde have bemærket. Kun naar de tilstedeværende Mikroorganismers Angreb antage meget store Dimensioner, opdage vi det i de store Glasballoner; men under disse Omstændigheder ville vi kunne gjøre den samme Iagttagelse ved at udtage smaa Prøver af vore Metalkar. En Glaskolbe paa 10 Liter og derover yder os altsaa i den nævnte Retning ikke større Hjælp end et lignende Kar af Metal, og da sidstnævnte er stærkere og lettere at behandle, vælge vi naturligvis dette.

Have vi saaledes erholdt en steril Urt i vore Kolber og Kar, vil det være heldigt at lade den staa en Tidlang, for at Vædsken deri efterhaanden kan optage Ilt fra Luften gjennem det bøjede Rør. I nogle Forsøg viste det sig nemlig, at Gjæren, som var avlet i luftet Urt, strax i Begyndelsen gav god normal Klaring, hvorimod den samme Gjær fra et aldeles lignende Forsøg, men med ikke luftet Urt, gav slet Klaring og først efter længere Tids Forløb blev normal. Lignende Iagttagelser bleve mig ogsaa godhedsfuldt meddelte af Aubry og A. Jørgensen.

Spørgsmaalet fortjener en nøjere Undersøgelse. Efter den Erfaring, der foreligger, maa det altsaa tilraades, helst at arbejde med luftet Urt. Ogsaa i anden Henseende er dette vigtigt, nemlig hvis man ønsker at erholde en nogenlunde fast Bundgjær i vedkommende Kar. Dette gjælder især, naar Talen er om Arter som Carlsberg Undergjær Nr. 1. At Urten i de omtalte Kolber og Kar virkelig ved Henstand i almindelig Stuevarme optager Ilt fra Luften, var det let at paavise. Efter 4 Maaneders Henstand indeholdt den steriliserede Urt endog forholdsvis mere fri Ilt end den normale luftede, som fra Svalebakkerne gaar ned i Gjærkjælderen.

Med en kraftig Vegetation af vor Renkultur inficeres nu de 4 eller 5 foran omtalte Glaskolber med Urt, egentlig behøves kun 4; den femte er en Reserve for det Tilfælde, at et Uheld skulde indtræffe. Disse henstilles ved almindelig Stuevarme og ville efter mindre end en Uges Forløb have dannet rigeligt Gjærbundfald. Den største Del af Øllet hældes da bort; man lader kun saameget blive tilbage, som der behøves for at løsne Gjæren; den overføres derpaa i de 4 Metalkar, idet hvert inficeres fra sin Kolbe. Dette sker gjennem Røret *a*, Fig. 2. At alle disse Arbejder maa udføres saaledes, at ingen Infektion udenfra kan finde Sted, er en Selvfølge. Hertil kræves særlig Kjendskab og en ikke ringe Øvelse; gjennem en Beskrivelse kan det ikke læres. Dagen efter vil allerede en kjendelig Gjæring være indtraadt, og man gjør da rigtigt i at borttage Filtret (*d*). Ønsker man at fremskynde Arbejdet, kan det ske derved, at man gløder det bøjede Rør og samtidig ved Rystning fjerner en Del af den dannede Kulsyre. I Almindelighed vil der efter henved 7 Dages Forløb være avlet saa megen Gjær, som der kan dannes, og de fire Kar indeholde da Paasætningsgjær til c. 1 Hektoliter Urt.

Hermed har Arbejdet i Laboratoriet naaet sin Slutning, det Øvrige sker i Gjærkjælderen selv. I denne stille vi nu et Kar op, som rummer c. 1½ Hektoliter. Det maa være fuldstændig renset, nylig ferniseret og dækket med et løstliggende Laag, saa at Kulsyren kan slippe ud. Urten skal være luftet, og under almindelige Bryggeriforhold maa vi derfor lade os nøje med den, som anvendes til de øvrige Gjærkar.

Efterat vi ved Hjælp af en Gasflamme have bortbrændt Støvet paa Overfladen af de 4 Kar med Renkulturen, hældes Indholdet ud i den omtalte Urt, idet man naturligvis ved Rystning sørger for, at al Gjæren kommer med.

Ønsker man ikke at indblande den delvis forgjærede Urt, eller kan Gjæren ikke fra Laboratoriet føres direkte ned i vedkommende

Gjæringskjælder, men skal først indpakkes til Forsending, saa maa man i Reglen lade Karrene staa et Par Dage længere, for at Gjæren kan aflejre sig i et fast Lag paa Bunden. I disse Tilfælde tappes Vædsken ud gjennem Røret *b*, Fig. 2. At man, medens dette sker, maa sørge for at sterilisere den Luft, som gjennem det krumbøjede Rør trænger ind, forstaas af sig selv.

Naar Karret med den foran omtalte Hektoliter Urt er kommen i kraftig Gjæring, og de første Tegn til Krølledannelse have vist sig, kan hele Indholdet sættes til 3 à 4 Hektoliter Urt. Paa denne Maade gaar den lille Portion hurtig ind i den normale Drift. Hvis man vil, kan man dog ogsaa strax lade hver Gjæring gaa til Ende paa sædvanlig Vis og først ved Hovedgjæringens Slutning tage den dannede Bundgjær. Denne vejes og sættes derpaa til en efter sin Vægt passende Mængde Urt. Om en saadan Renkultur er det at bemærke, at den i de første Gjærkar ofte, omend langt fra altid, attenuerer lidt stærkere end senere og ligeledes i Begyndelsen giver en mindre god Klaring. Herved er mangen Brygger bleven forskrækket uden Grund.

Det er denne Fremgangsmaade, hvorefter der i Bryggerierne hidtil i Almindelighed er blevet arbejdet med mine rendyrkede Gjærarter; den anvendes endnu talrige Steder i Ind- og Udlandet og har gjort og gjør fremdeles god Nytte.

Rendyrkningsapparatet.

Ovenfor blev det berørt, at nogle Ølgjærarter ere mindre modstandsdygtige overfor Konkurrenterne end andre, og som Exempel herpaa nævnede jeg Carlsberg Undergjær Nr. 2. Naar man arbejder med Arter som denne, er Faren for, at Sygdomskim kunne faa Overhaand, forholdsvis stor. Det har derfor under disse Omstændigheder en særlig Betydning at lade saa store Mængder absolut ren Gjær og med saa korte Mellemrum som muligt passere gjennem Gjæringskjælderen for paa denne Maade hurtigt at fortrænge den ældre, urene Gjær. Efter min gamle, ovenfor beskrevne Fremgangsmaade var det allerede et temmelig stort Arbejde to Gange om Maaneden at bringe Bryggeriet ren Paasætningsgjær til 1 Hektoliter Urt, og da dette dog ikke for alle Arters Vedkommende giver fuldkommen Sikkerhed, saa opstod naturligt Ønsket hos mig om at gaa endnu videre. I den Anledning henvendte jeg mig til Hr. Kapt. Kühle, Direktør for Bryggeriet Gl. Carlsberg, og i 1885 begyndte vi da i Forening at arbejde hen til at faa et Apparat opstillet i selve Gjæringskjælderen

til en kontinuerlig Masse-Produktion af absolut ren Gjær. Efter nogle Forsøg blev dette ogsaa opnaaet; Æren herfor tilkommer hovedsagelig Kapt. Kühle. En kort Meddelelse herom gav jeg ved den østerrigske Bryggerforenings Generalforsamling i Graz 12 Juni 1887.

Under Udarbejdelsen af efterfølgende Meddelelser har jeg havt det Maal for Øje, at de skulle kunne forstaas af enhver eftertænksom Læser og ikke paa noget Punkt stille Krav til specielle Forkundskaber. Endvidere har jeg ønsket at give saa nøjagtige og saa udførlige Oplysninger, at den forstandige Praktiker heri skal kunne finde ethvert rimeligt Spørgsmaal besvaret, saa at han uden Tidsspilde og Pengetab skal kunne opstille Apparatet og arbejde dermed. Den, der vil frembringe et Værk, som skal gjøre Nytte i Praxis, tør ikke indskrænke sig til de store Omrids, men maa ogsaa udarbejde Enkelthederne; meget, som i theoretisk Henseende kan se smaat ud, har netop ved en saadan Lejlighed en særlig Betydning. I Overensstemmelse hermed er ogsaa Alt, hvad her meddeles, nøje prøvet i flere forskjellige Bryggerier og Resultatet af henved tre Aars Erfaring.

I den efterfølgende Beskrivelse fremstilles først den Form af Apparatet, i hvilken hverken Gjærings- eller Urtcylinderen har Envelopper; men førstnævnte er beklædt med et isolerende Materiale, f. Ex. Trælister. I denne Skikkelse er det bestemt til at opstilles i Gjæringskjælderen selv. Derefter følger Beskrivelsen af den Form, det skal have, naar det opstilles i et overjordisk Rum eller overhovedet under Forhold, hvor det bliver nødvendigt at regulere Gjæringscylinderens Varmegrad. Tilsidst gives en Anvisning til at benytte det.

Som Fig. 4 viser, bestaar det af tre Hoveddele og de disse forbindende Ledninger, nemlig: 1) Afdelingen for Luftningen, bestaaende af Luftpumpen (*A*) og Luftbeholderen (*B*), 2) Gjæringscylinderen (*C*), og 3) Urtcylinderen (*D*).

Pumpen (*A*) drives med Maskinkraft og optager Luften igjennem et Forfilter, for at en foreløbig Rensning kan finde Sted. Luftbeholderen (*B*) er forsynet med et Manometer og med en Sikkerhedsventil. Den fyldes med Luft indtil en Spænding af 1—4 Atm. Ledningsrørene maa paa passende Steder forsynes med Haner til Udtapning af det Vand, som kan samles i dem; særlig vigtigt er det, at dette sker i Ledningen mellem Luftbeholderen (*B*) og Filtrene (*g* og *m*). Disse forbindes med Luftledningsrørene helst ved Hjælp af Metalrør; hvis man vil anvende Kautschukslanger hertil, maa de være meget stærke for at kunne

udholde Trykket. Anvendes Metalrør, skulle de naturligvis have nogen Spændighed og overhovedet være indrettede saaledes, at Filtrene med tilstrækkelig Lethed kunne anbringes i deres Stilling og atter fjernes[1]).

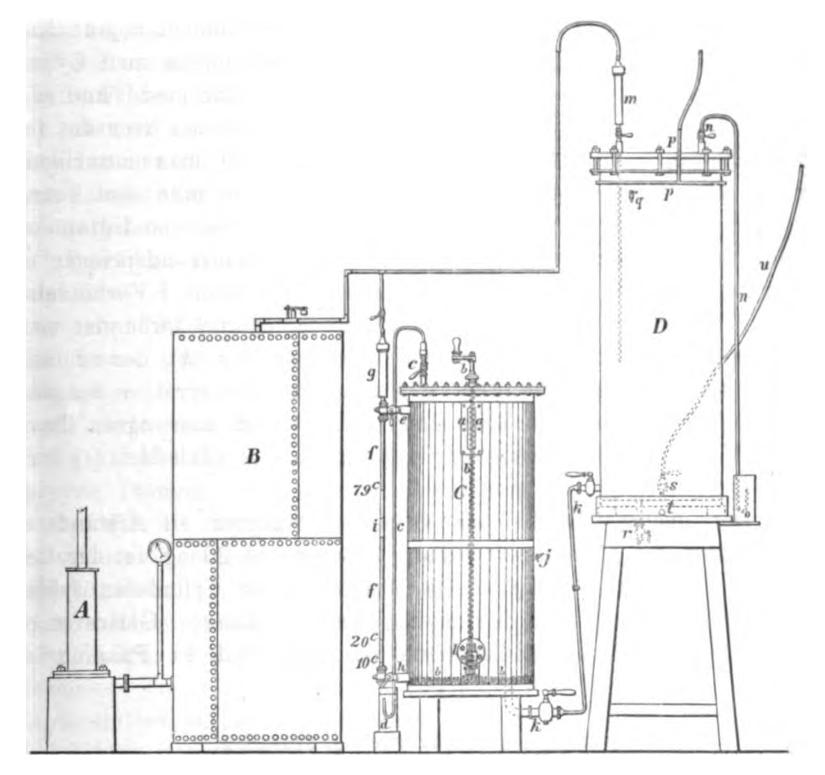


Fig. 4.

Paa Siden af Gjæringscylinderen (C) findes to skraas for hinanden stillede Vinduer (a). Jeg har taget disse Vinduer med, fordi enkelte Praktikere synes at sætte Pris derpaa; min egen Erfaring viser imidlertid, at de helst bør udelades. Igjennem det

---

1) Der blev intet Patent taget paa Apparatet, og det staar saaledes Enhver frit at lave det. Kapt. Kühle og jeg anbefale imidlertid dem, som ønske at benytte det, at tage de to Cylindere fra Hr. Kobbersmed W. E. Jensen i Kjøbenhavn, da dette Etablissement er nøje kjendt med den hele Konstruktion og leverer et godt Arbejde.
Paa Grund af, at Kobberet er steget med c. 90 %, har Hr. Jensen i Januar 1888 maattet forhøje sine gamle Priser:

nøjagtigt paaskruede Laag gaar et Røreapparat (*b*), som forneden ender med to Blade, hvoraf det ene fører et Kautschukblad, hvilket er saaledes tilskaaret, at saavel Bunden som Væggen af Cylinderen berøres deraf, naar en Omdrejning finder Sted. Den inde i Cylinderen værende Del af Røreapparatet er gjengivet ved en mørkere Tone. Fra Laaget udspringer det dobbelt bøjede Rør (*c*), som, naar dets Hane aabnes, sættes i Forbindelse med Cylinderens Indre; dets frie Del er neddykket i et Kar med Vand (*d*). Dette Rør kan anbringes til den Side af Cylinderen, hvor det for Opstillingen i Fabrikken er bekvemmest. Der maa naturligvis under alle Omstændigheder sørges for, at Vandet ikke skal kunne sprøjte ned i det Kar, som under den senere beskrevne Udtapning stilles under Hanen (*l*). Lidt nedenunder Laaget udspringer et vandret Rør (*e*); herved kan Cylinderens Indre træde i Forbindelse med det lodret stillede Glasrør (*f*). Dette er opadtil forbundet med Filtret (*g*) og nedadtil med et andet vandret Rør (*h*), der er indrettet som det først omtalte. For at styrke Glasrøret er der paa dets Midte indskudt et Kautschukled (*i*); man kan ogsaa have Glasrøret i eet Stykke og da indskyde Kautschukleddet (*i*) foroven.

Det øverste Mærke paa Glasrøret betegner en Afstand af 79 Centim. fra Cylinderens Bund, det næste af 20 og det derefter følgende nederste Mærke af 10 Centim. Naar Cylinderen fyldes til øverste Mærke, har den modtaget c. 170 Liter. Glasrøret er forbundet med Vandstandshanerne (*e* og *h*) ved en Pakning af

---

Urtcylinderen med Vandkappe og Brusering, fuldstændig udstyret (Fig. 6, *D*)	700 Kr.
Urtcylinderen som foregaaende, men i Stedet for Vandkappen kun en Spildevandsbakke .	500 Kr.
Gjæringscylinderen med Vandkappe, fuldstændig udstyret (Fig. 6, *C*)	750 Kr.
Gjæringscylinderen som foregaaende, men uden Vandkappe	550 Kr.

Disse Cylindere ere i alle Tilfælde forsynede med Laag af den i Fig. 6 angivne Konstruktion og lavede af fortinnet Kobber med forøvigt forniklet Metalarbejde.

De af Hr. Jensen forfærdigede Cylindere forhandles og opstilles ligeledes af Hr. F. W. Pest's Etablissement, Bergstr. 8 i Berlin.

Luftpumpen og Luftbeholderen kunne erholdes overalt. En passende Luftpumpe faas for c. 400 Kr., en Luftbeholder med 25 Kubikfod Rumfang og prøvet ved 5 Atm. koster c. 500 Kr.

Forespørgsler om Apparatet anmodes man om direkte at rette til den Fabrikant, man ønsker at benytte.

Hamp eller Bomuld med Vaseline; Kautschuk er uheldig hertil, fordi det ved Dampningen bliver haardt.

Filtret (*g*) bestaar af en Metalkapsel, der indeslutter en fastpakket Søjle af Bomuld, 22 Centim. lang og 3 Centim. i Diameter. Der anbringes mindst 35 Gram Bomuld, om man lægger nogle Gram til faar ingen Betydning. Ved at presse Massen tæt sammen, kan der optages 50 Gram og derover, men saa meget behøves ikke. Filtret lukkes foroven ved Hjælp af et paaskruet Laag, der atter er sat i Forbindelse med Ledningen fra Luftbeholderen. Forinden det skrues paa, steriliseres det ved 2 Timers Opvarmning i en Varmekasse med c. 150° C. Om Filtreringen tales forøvrigt i det Følgende.

Paa Cylinderens modsatte Side ses et lille, næppe 1½ Centimeter langt Rør (*j*), hvorpaa der er fastgjort en Kautschukslange, der atter er lukket med en Klemme og med en Glasprop. Fra Cylinderens Bund gaar et Rør (*k*), hvorved Forbindelsen med Urtcylinderen (*D*) tilvejebringes; dette Rør er for Bevægelighedens Skyld sat sammen af to Stykker, og foruden de to afbildede store Haner har det tillige et Par mindre, hvilke under den senere beskrevne Dampning kunne anvendes dels til at udtappe fortættet Damp, dels til Indledningen af de spændte Vanddampe.

Den i Tegningens Midtlinie forneden afbildede Hane (*l*) er til Udtapning af Øl og Gjær. Konstruktionen deraf ses i Fig. 5. Pilene angive den Retning, i hvilken Vædsken strømmer, naar en Aabning finder Sted; Kegleventilen skrues da nedad og, naar der skal lukkes, opad. Den er afbildet i lukket Tilstand. Som Konstruktionen er, forhindres en Infektion udenfra under Tapningen, idet nemlig Cylinderens egen Vædske selv renser Hanen. Denne Hanes Rør fortsætter sig indenfor Cylinderens Væg og bøjer sig nedad mod Bunden; dens Munding befinder sig i 3½ Centimeters Afstand fra denne (Se Fig. 6, *C*, *l*). Den er kort sagt indrettet saaledes, at der under Udtapningen ikke kan trænge Luft udenfra ind i Cylinderen.

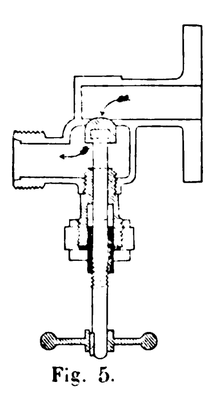


Fig. 5.

Naar denne stilles op i selve Gjæringskjælderen, kan den, som foran bemærket, beklædes med Trælister; disse ere antydede i Fig. 4, *C*. Om Cylinderen med Envelop se næste Side.

Urtcylinderen (*D*) maa, som Figuren viser, være stillet højere end Gjæringscylinderen; den er ogsaa selv højere end denne;

dens Diameter er derimod den samme. Da den skal renses hyppigere end Gjæringscylinderen, er dens Laag indrettet til at aftages med større Lethed. Det bærer et Filter (*m*) af samme Beskaffenhed som *g*, og som fortsættes ned i Cylinderen med et Rør (vist med punkterede Linier), hvilket i sin nederste lukkede Ende er forsynet med nogle Smaahuller, hvorigjennem den fra Filtret kommende Luft kan strømme ud. Det dobbeltbøjede Rør (*n*) svarer til *c* paa den anden Cylinder og har ligesom dette sit Kar med Vand (*o*). For Urtcylinderens Vedkommende er det vigtigt, at Aabningen i Røret (*n*) og i den tilsvarende Hane ikke er saa ringe, at Humleblade eller sligt kan fremkalde en Tilstoppelse; passende er 1¹/₈ Centim. Diameter i Røraabningen. Foroven er denne Cylinder i en temmelig ringe Afstand fra Laaget omgiven af et ringformigt Rør (*p*), hvis indadvendte Del er forsynet med Smaahuller; det er lukket i den ene Ende, og dets anden Ende sat i aaben Forbindelse med en Koldtvandsledning. Foruden Hanerne paa Forbindelsesrøret (*k*) mellem de to Cylindere har Urtcylinderen endvidere tre andre (*q*, *r*, *s*). Hanen (*s*) staar i Forbindelse med Urtledningen (*u*), som udmunder i den Hovedledning, der findes mellem Svalebakkerne og Bryggeriets Urt-Kogekjedel. Cylinderen staar i en Bakke, som er forsynet med et Udløb (*t*) for det Vand, der under Nedsvalingen strømmer nedad Cylinderens Sider. De punkterede Linier i *t* angive dels nogle Bøjler, hvorpaa Cylinderen hviler, dels dennes nederste ringformede Parti og dens derover værende Bund.

Da Apparatet ved Nytaarstid 1886 blev opstillet paa Ny-Carlsberg, maatte Gjæringscylinderen, fordi den skulde have sin Plads i et Værelse over Jorden, hvor den var udsat for kjendelige Temperatursvingninger og navnlig om Sommeren for en for høj Varmegrad, underkastes nogle Modifikationer; disse bleve paa en smuk og praktisk Maade gjennemførte af Hr. Overinspektør Henningsen.

Hovedopgaven var at indrette Gjæringscylinderen saaledes, at man kunde beherske Temperaturen af den deri værende Vædske og navnlig være i Stand til at foretage en Nedsvaling. Hertil tjener Enveloppen, som er afbildet i Fig. 6, *C*. Den gaar ikke blot højt op ad Cylinderens Sider, men tillige under dens Bund, og for Rensningens Skyld har den en løs Bund, som med temmelig Lethed kan skrues fra. I dette Tilfælde maa man have en poseformig Indsænkning gjennem Kappen ind i Cylinderen selv til Anbringelse af et Thermometer. Vinduerne falde nu selvfølgelig bort. Enveloppen har en Hane forneden til Indførelse af Svalevandet og paa den modsatte Side foroven et Udløbsrør; en tredie Hane for-

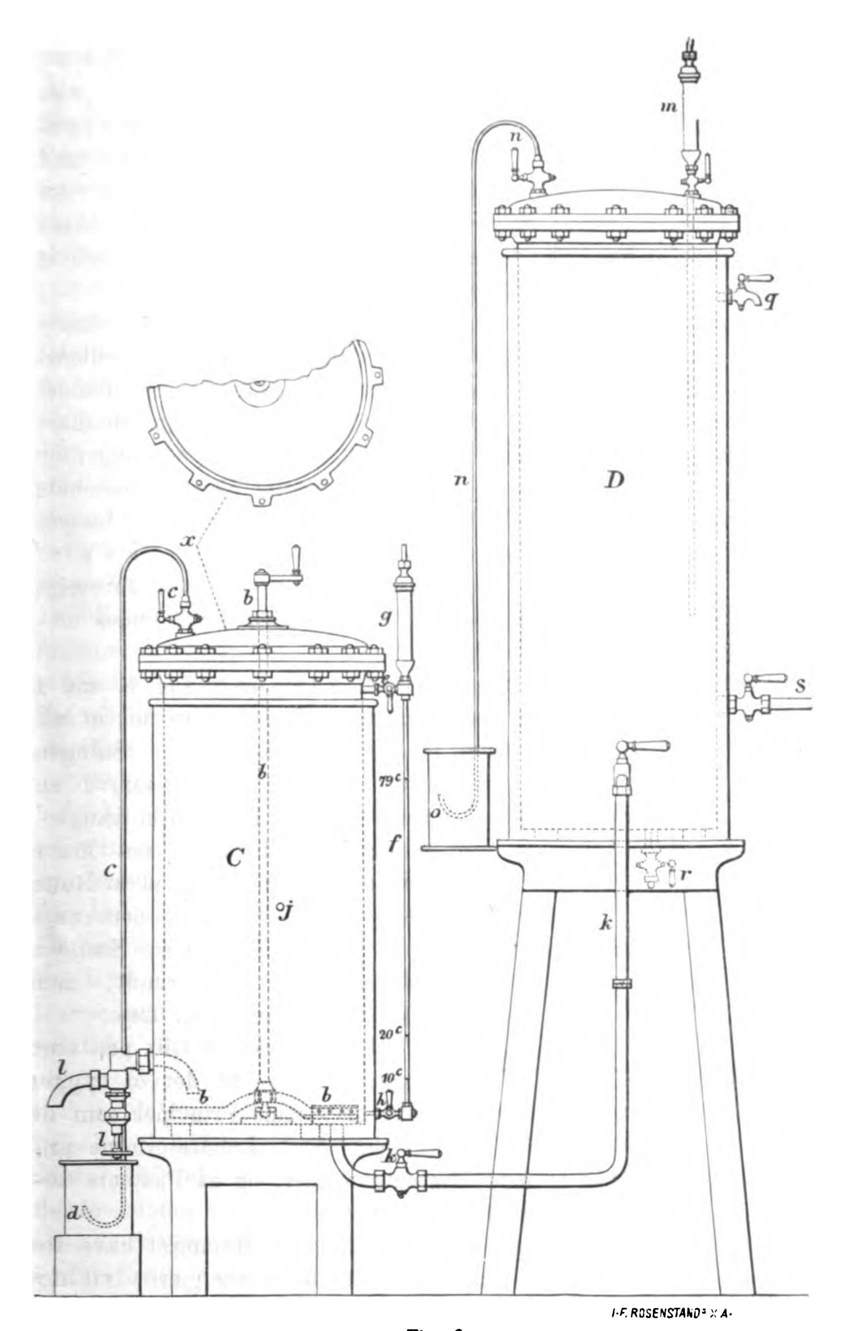


Fig. 6.

neden skal navnlig tjene til Udrensning af det Bundfald, som Vandet efterhaanden afsætter.

Urtcylinderen (Fig. 6, *D*) har ogsaa faaet sin Kappe, men den kan godt undværes, da Svaleringen (Fig. 4, *p*) gjør fuldkommen Fyldest. Det er imidlertid behageligere at arbejde med Kappen, idet den nemlig danner en Skjerm omkring det fra Ringen nedstrømmende Svalevand, saa man ikke bliver oversprøjtet deraf. En Cylinder med Kappe er til Gjengjæld betydelig kostbarere og mindre let at flytte.

Fig. 6, *C*, *x* viser os tillige en bedre, men derfor ogsaa kostbarere Konstruktion af Laaget end den i Fig. 4 fremstillede. Midtstykket er af Kobber og er forsynet med en paaloddet Messingflanche, der springer frem med 12 Lapper; igjennem disse gaa Bolte, som ere forsynede med Møttriker. Mellem Laaget og Cylinderens Krave anbringes i en dertil indrettet Fure en passende Kautschukring. Man er herved i Stand til at forbinde Laaget fuldstændig lufttæt med Cylinderen.

De i omstaaende Fig. 6 anbragte Bogstaver have forøvrigt samme Betydning som i Fig. 4, og Forklaringen dertil findes altsaa p. 282—286.

Røreapparatets Indretning (*b*) ses tydeligere i Fig. 6 end i Fig. 4. For at det ikke under Brugen skal komme ud af sit Tapleje paa Cylinderens Bund, er dette et Kugleleje. Stangen ender, som Fig. 7 viser, i en Kugle, der hviler i en halvkugleformig Fordybning i det faste Underlag. Ved Hjælp af to Bolte fastgjøres to Stykker, som nøjagtig passe til Kuglen; Stangen kan da vel drejes rundt, men ikke komme ud af sit Leje.

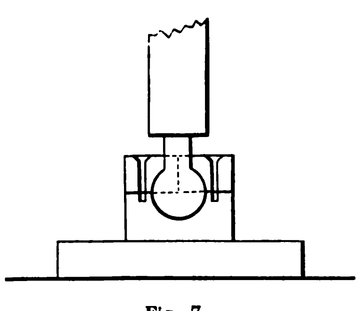


Fig. 7.

Et opmærksomt Blik paa vort Apparat viser, at det er bygget efter de samme Principer som de Kolber, der i Laboratorierne anvendes til Experimenter med Mikroorganismer, og at Pasteurs tohalsede Kolbe navnlig har tjent som Forbillede.

Naar man opstiller det, maa man først og fremmest have for Øje, at det kan staa i Fred. Hvis det lader sig gjøre, vil det vistnok i Almindelighed, som det er sket paa Gl. Carlsberg, være mest praktisk at anbringe det i Gjærkjælderen selv. Man har da

i Reglen ingen Ulejlighed med at regulere Temperaturen, og det tager forholdsvis mindre Tid at passe det, idet Folkene i Mellemtiden kunne udføre andet Arbejde i Nærheden. Er Gjærkjælderens Temperatur under 6° C., vil det være tilraadeligt at anbringe en Vandkappe om Gjæringscylinderen. Ved Opstillingen maa man naturligvis fra Begyndelsen tage Hensyn til, om man agter at anvende een eller flere Gjæringscylindere; under alle Omstændigheder er der kun Brug for een Urtcylinder.

Det første, man har at gjøre, naar Apparatet er opstillet, er at prøve, om Cylinderne ere tætte. Dette sker ved forsigtigt at indlede Damp gjennem Ledningen (*k*) og derefter lukke for de øvrige Haner. At man bestandig maa arbejde med en vis Forsigtighed, navnlig i Begyndelsen, følger af sig selv. En Hovedbetingelse er det, at den, der skal benytte Apparatet, i Forvejen nøje gjør sig bekjendt med dets Indretning og Anvendelse. De første Prøver bør helst gjøres med Vand. En Regel er det, at kun een Mand bør lede det Hele. Erfaringen har vist mig, at man i Begyndelsen navnlig ofte glemte dette, men naar Flere kommandere, gaar det galt.

Naar Apparatet skal sættes i Gang, maa man foretage en fuldstændig Sterilisation af de to Cylindere, af den disse forbindende Ledning og af Ledningen, gjennem hvilken Urten tilføres Urtcylinderen. Dette sker ved en stærk Gjennemdampning; Filtrene steriliseres, som det erindres, i en Varmekasse.

Sterilisationen af Gjæringscylinderen sker derved, at Dampledningen sættes i Forbindelse med en af Hanerne paa Ledningen (*k*) (Bogstaverne henvise til Fig. 4 og 6), og medens de stærkt spændte Vanddampe trænge ind, aabnes af og til de forskjellige Haner, saa at Udstrømningen ikke blot foregaar gjennem det dobbelt bøjede Rør (*c*), men tillige gjennem disse. Dette vedvarer 1/2 Time. Kort forinden anbringes Filtret, og derpaa lukkes alle Haner undtagen den, der hører til det dobbelt bøjede Rør, og samtidig aabnes for Luften, der nu gjennem Filtret (*g*) og Ledningen (*h*) strømmer ind i Cylinderen. Denne afkøles dels herved og dels derved, at man lidt efter lidt formindsker Damptilførselen. Afkølingen foretages kort sagt saaledes, at der stadig bobler Luft blandet med Damp gjennem det dobbelt bøjede Rør (*c*). Saalænge der gjennem dette gaar tydelige Dampstrømme, og man altsaa derved let kan iagttage, ad hvilken Vej Luftbevægelsen finder Sted, behøver man ikke Vandkarret (*d*); det er først paa et lidt senere Stadium, at det er nødvendigt som Indikator. Lukkede man pludselig af for Dampen, kunde der være Fare for, at Filtret ikke formaaede at tilføre den Luftmængde, som vilde

være fornøden for at forhindre, at der ved Afkølingen skulde opstaa et luftfortyndet Rum, og i saa Fald vilde Følgen blive, enten at Cylinderen kom til at indsuge uren Luft eller, at den ved Luftens Tryk udvendig fra blev klemt sammen. Afkølingen tager under disse Forhold ved almindelig Gjærkjælder-Temperatur c. 2 Timer.

Angaaende Vandafspærringen ved de dobbelt bøjede Rør (*d* og *o*) kan her en Gang for alle bemærkes, at dens Betydning kun er den at give tilkjende, i hvilken Retning, Luftbevægelsen foregaar.

Urtcylinderen og dens to Ledninger (*s*, *u* og *k*) underkastes en lignende Sterilisation, Afkølingsprocessen falder imidlertid her bort. Naar man omtrent er færdig med Dampningen, aabner man for den filtrerte Luft og leder Urten ind. Den Urt, der benyttes, er almindelig humlet Urt til Lagerøl; den er bleven steriliseret ved Kogningen i Bryggeriet og føres i saa varm Tilstand som muligt gjennem Ledningen (*u*) og dennes Hane (*s*) ind i Cylinderen. (I Fig. 4 er Ledningen (*u*) angiven, i Fig. 6 derimod ikke; den maa i sidstnævnte Afbildning tænkes som en Fortsættelse af Hanen, *s*). Kort forinden man er færdig med Dampningen, begynder man at pumpe den kogende Urt ud paa Bakkerne, og 10 Minutter derefter aabner man for Hanen (*s*). Man lader Urten strømme ned, indtil den har naaet den øverste Hane (*q*), hvorpaa Hanen (*s*) lukkes. Det kan anbefales at hænge en lille Spand under Hanen (*q*) til at opfange Urten fra denne. Naar Urten begynder at strømme ned deri, ved man, at man har erholdt det ønskede Maal. De i Cylinderen værende hede Dampe og den tilstedeværende Luft uddrives dels gjennem *q*, dels gjennem det dobbelt bøjede Rør (*n*). Det kan være rigtigt, gjennem den nederste Hane (*r*) at udtappe den første lille Portion Urt, som kommer ind, da den nemlig i høj Grad bliver blandet med fortættet Vanddamp og herved erholder en ilde Smag.

Naar den ønskede Urtmængde er kommen ind i Cylinderen, lukkes Hanerne (*q* og *s*). Gjennem Filtret lader man nu den sterile Luft strømme ind i den varme Urt i Løbet af en Timestid, forinden man begynder den egentlige Nedsvaling, men ogsaa under denne fortsætter man hele Tiden Luftningen. I Almindelighed vil det være tilstrækkeligt, naar der er et Tryk af 1—2 Atm. i Luftbeholderen. Der ønskes kun, at der i Cylinderen bestandig skal være et ringe Overtryk af steril Luft. Herved opnaar man Sikkerhed for, at ingen Indsugning af uren Luft kan finde Sted, og at Urten optager en passende Mængde Ilt. Det er en Selvfølge, at man ikke, som det en Gang skete i et Bryggeri, maa glemme i

Forvejen at aabne for Hanen ved *n*; en Sprængning vil ellers kunne finde Sted.

Naar den egentlige Nedsvaling skal begynde, sættes Svaleringen (*p*) i Forbindelse med en Vandledning. Man overrisler saaledes Cylinderens Sider, indtil Urtens Temperatur derved er bragt ned til henved 10° C., hvilket i en almindelig Gjærkjælder plejer at tage 1 Time. Den øvrige Nedsvaling maa foretages ved Hjælp af Isvand.

Luften har imidlertid uafbrudt boblet gjennem Vædsken og ud af det dobbelt bøjede Rør og herigjennem tillige ført en Del Urt med sig; der vælter nemlig en ret betydelig Mængde Skum frem, hvilket dog har vist sig ikke at give Anlednig til Infektion. En altfor voldsom Luftning bør undgaas, for at der ikke skal tabes en saa stor Mængde Urt, at den tilbageblevne Rest ikke kan forslaa.

Det er først, efterat Urten er svalet ned til c. 11° C., at Skummet gaar gjennem Røret. Mindre generes man deraf, naar man i Karret (*o*) anbringer varmt Vand.

Den saaledes til Gjæringen forberedte Urt bringes derpaa ned i Gjæringscylinderen gjennem Ledningen (*k*).

For at undgaa at bringe Uro i Vædsken, medens den strømmer over i Gjæringscylinderen, kunde man sætte Filtret (*m*) i Forbindelse med et togrenet Rør, hvis ene Gren fortsættes af det foran beskrevne Luftningsrør, medens den anden kun gjennemborer Cylinderens Laag, altsaa uden at komme i Berøring med Vædsken; ved Haner maatte da enhver af disse to Grene kunne aabnes og lukkes for Luftstrømmen. Den under Urtens Udtapning nødvendige Lufttilførsel skulde i saa Fald naturligvis udelukkende finde Sted gjennem den sidstnævnte Gren. Nogen væsentlig Betydning har denne Ændring i hvert Fald ikke; den findes paa nogle af de af Hr. W. E. Jensen forfærdigede Cylindre, paa andre derimod ikke.

Ønsker man, at Urten først skal afsætte en større Del af sit Bundfald, kan man lade den staa en Timestid. For at sikre sig mod Indsugning tør man dog ikke fuldstændig lukke for Filtret, men indskrænker blot Luftstrømmen. Dette Bundfald gjør forøvrigt ingen Skade i Gjæringscylinderen, og man kan derfor godt føre Urten over, saasnart den er afsvalet. Til den Tid vil der ogsaa være afsat et ret betydeligt Bundfald, og da Mundingen af Ledningen (*k*) er anbragt i en temmelig Afstand over Urtcylinderens Bund, vil kun en ringe Del af dette Bundfald blive ført med.

Den første Tilførsel af Urt maa ikke naa højere op end til Udspringsstedet af det lille Rør (*j*); herigjennem tilsættes nemlig Gjæren. Denne har man samlet i nogle store tohalsede Glas-

kolber, og man arbejder ved Hjælp af en Spirituslampe, forsaavidt en Gaslampe ikke findes. Om Gjærens Tilberedning og Anbringelse i Cylinderen se forøvrigt p. 298.

Røreapparatet sættes derpaa i Gang, for at Gjæren kan blive godt sammenblandet med Urten, og naar dette er sket, tilsættes den endnu manglende Del af denne, idet man nemlig fylder op til det øverste Mærke paa Glasrøret (*f*), c. 170 Liter. Den i dette staaende Vædskesøjle føres ved Lufttryk fra Filtret ind i Cylinderen, idet man forinden lukker for Hanen paa det øverste vandrette Rør (*e*) og aabner for Hanen paa Røret (*h*). Hvis man ikke under Gjæringen vil fortsætte Luftningen, lukkes naturligvis ogsaa paa sidstnævnte Sted, dog først, efterat man i Forvejen har lukket for Ledningsrøret til Filtret.

Efter en halv Snes Døgn kan den ønskede Del af den nyavlede Gjær udtages. Ved denne Angivelse har jeg tænkt mig, at Cylinderen er udsat for almindelig Gjærkjældertemperatur; er Varmegraden derimod højere, vil man naturligvis efter kortere Tids Forløb kunne tage Gjæren. Gjennem Hanen (*l*) tapper man Øllet ud, og naar der begynder at løbe Skum med ud, lukkes der. Fra Urt-Cylinderen, hvis Vædske paa den Tid maa være færdig til den nye Gjæring, overføres derpaa saa meget, at det naar op til næstnederste Mærke paa Glasrøret (*f*). Med Røreapparatet røres Gjæren godt op, og denne Blanding af Gjær og Urt tappes derpaa ud i et fuldstændig rent Kar (vel renset med Vand og derefter gjennemdampet eller vasket med en spirituøs Opløsning af Salicylsyre). Man standser med denne Udtapning, naar Vædsken er sunken til det nederste Mærke paa Glasrøret, hvorpaa der atter fyldes op med Urt til det næstnederste, og efter en passende Omrøring udtappes paany tyndflydende Gjær i Karret, indtil det nederste Mærke er naaet; man har da udtaget ialt c. 50 Liter. Den tilbageblevne Rest er tilstrækkelig til at frembringe en lignende Avl som den foregaaende.

Det er hensigtsmæssigt at have to Mærker afsat i det Kar, hvori Gjærblandingen udtappes, saaledes at det ene betegner 25, det andet 50 Liter; om nogen stor Nøjagtighed er der her slet ikke Tale.

Med den udtappede Gjær, som giver Paasætningsgjær til 8 Hektoliter Urt, bringes saa snart som muligt en ny Gjæring i Gang i et vel renset almindeligt Kar. Kan det ikke ske strax, bør man dække Gjærkarret og stille det hen paa et koldt og renligt Sted.

Under Udtapningen saavel af Urten som af Øllet fra de to Cylindere maa man selvfølgelig nøje sørge for, at en passende

Luftmængde uafbrudt kan strømme gjennem Filtrene. Vedkommende Vædske vilde ellers vanskelig kunne løbe ud, og en Indsugning udenfra kunne finde Sted. Saasnart Udtapningen af Gjæringscylinderen er færdig, fyldes op med Urt til det øverste Mærke paa Glasrøret; der røres op, og den nye Avl er hermed sat i Gang.

Mundingerne af de to Haner (*l* og *k*) renses strax nøjagtig for den Øl- og Urtvædske, som findes deri; i modsat Fald vilde der nemlig udvikle sig en Vegetation af Bakterier, Gjær- og Skimmelsvampe. Man kan hertil passende anvende Dampslangen, idet man paa den befæster et rørformet Mundstykke, og derefter benytter den paa samme Maade som en Sprøjteslange. Det varme Vand, som først kommer frem i Slangen, naar man aabner for Dampen, benyttes til Udskylningen; Steriliseringen udføres med de derefter følgende spændte Dampe. Naar dette er sket, lukkes vedkommende Mundinger, idet man skruer Metallaag derpaa.

Under Gjæringen vil den dannede Kulsyre forhindre, at en Indsugning indtræder, og man behøver altsaa af den Grund ikke at lufte; Gjæringen og Celledannelsen finde tilmed ogsaa Sted paa passende Maade, uden at der luftes. Ønsker man imidlertid for at indvirke paa Gjæringens Gang at anvende en Luftning, vil der i Reglen kun være Tale om at lade ringe Luftmængder passere gjennem Vædsken. Disses Tilstrømning reguleres da saaledes ved Hanen ovenover Filtret, at der med et Par Minuters Mellemrum bobler lidt Luft ud af det dobbelt bøjede Rør og op gjennem Vandet (*d*). Under disse Forhold vil man ogsaa ved at lægge Øret til Cylinderen kunne høre en ganske langsom, stødvis Boblen gjennem Urten. Har Cylinderen en Envelop, maa man nøjes med at iagttage den i Vandet. At man ogsaa kan lufte ovenover den gjærende Urt gjennem Røret (*e*), er selvfølgeligt.

Om Luftningens Indflydelse formaa vi desværre endnu ikke at opstille almengyldige Regler for Praxis.

Ved Hjælp af de p. 283 omtalte Vinduer (*a*) sættes man i Stand til at se ind i Gjæringscylinderen og at betragte Vædskens Overflade. Det er imidlertid ikke megen Oplysning, man paa den Maade kan erholde, og da disse Vinduer under Dampningen let springe itu og overhovedet frembyde en Kilde til Utæthed, bør de helst udelades. Apparatets Indretning tillader forøvrigt med Lethed at erholde Prøver til Kontrol; større Prøver udtages gjennem Hanen (*l*), smaa gjennem Røret (*j*). Erfaringen vil dog hurtigt lære, hvorledes Gjæringen paa det givne Sted gaar, og man kan da altid uden foregaaende Undersøgelse nogenlunde vide, naar Tidspunktet er kommet til at tage Gjæren. Her maa tilmed erindres,

at Opgaven kun er at avle Paasætningsgjær og ikke at producere Øl af en bestemt Beskaffenhed. At Øllet ikke spildes, men føres i Lagerkjælderen med Bryggeriets øvrige Øl, følger af sig selv.

Ved Apparatets Anvendelse er der to Hovedpunkter at mærke: 1) at Gjennemdampningen er tilstrækkelig, saa at en virkelig Sterilisation opnaas, og 2) at der under Afkølingen og Udtapningen bestandig findes et Overtryk af steril Luft i vedkommende Cylinder. Naar disse to Hovedbetingelser ere opfyldte, kan ingen Infektion, ingen Indsugning af uren Luft finde Sted. At der forøvrigt maa arbejdes med Omhu, kan ikke tilstrækkelig indskærpes. Følges den her givne Anvisning nøjagtigt og med Forstaaelse, ville Vanskeligheder ikke indtræde. I de Aar, i hvilke Apparatet har været i Gang i Gl. Carlsbergs Gjæringskjælder, blev det til forskjellig Tid underkastet en skarp Kontrol, men bestandig viste det sig, at Alt var i Orden.

Om Filtrene.

Hurtigere og lettere vilde man komme til Maalet, hvis det lod sig gjøre at tage den paa Svalebakkerne færdigt afkølede og iltede Urt og ved Filtrering befri den for de Mikroorganismer, der altid findes deri; Urtcylinderen vilde da falde bort, og hele Fremgangsmaaden blive simplere. De Forsøg, som i den Retning bleve anstillede, gave imidlertid intet tilfredsstillende Resultat.

Til Filtre, som skulde kunne anvendes hertil, maa man ikke blot stille den Fordring, at de give en absolut kimfri Vædske, men tillige, at de i en given Tid ikke lade for smaa Vædskemængder trænge igjennem, og endelig at Vædskens Sammensætning ved Filtreringen ikke i væsentlig Grad forandres. Det Filter, som i disse Henseender ifølge de foreliggende Beretninger yder det Meste, er Chamberlands, og det blev derfor ogsaa valgt, nemlig den nye Model, som kom i Handelen i 1886. Forsøgene bleve efter min Anvisning anstillede af Hr. Assistent Poulsen. De Resultater, han erholdt, vare følgende:

Et Filter, bestaaende af 5 Rør, gav i $2^1/_2$ Time 10 Liter Siposeurt (13,5 % Ball.), naar der anvendtes en Sugning af $^6/_7$ Atm., og naar Rørene bleve godt rensede udvendig ved Børstning hvert 10de Minut. For i den angivne Tid at erholde 1 Hektoliter, maatte man altsaa have 50 Rør. Rensningen vilde under disse Forhold blive temmelig vanskelig, og det vilde tillige let kunne ske,

at et eller andet af de mange skrobelige Rør kunde faa Stød, saa at de fik større eller mindre Revner. I saa Fald vilde man kunne blive narret, idet Gjæringscylinderen da modtog en inficeret Urt. Den væsentligste Mangel er imidlertid den, at Urten ved Filtreringen mistede Halvdelen af den Iltmængde, som ved Luftningen paa Svalebakkerne var optagen deri, og som er nødvendig for den normale Gjæring.

Som en Følge heraf vil det ikke være fordelagtigt at benytte Filtrering til at sterilisere Urten til Gjæringscylinderen. Ved disse Forsøg fik jeg imidlertid Øje for, hvor fortrinligt Chamberlands Filter er til at fremstille forskjellige sterile Næringsvædsker, hvorfor der ofte er Brug i et gjæringsfysiologisk Laboratorium. Vil man sikre sig et fulstændig kimfrit Filtrat, maa man dog med korte Mellemrum sterilisere Rørene. De kunne ikke, som man i Begyndelsen var tilbøjelig til at antage, fungere saa længe det skal være; efter kortere eller længere Tids Forløb gaar der nemlig Bakterier igjennem dem.

Vi have i det Foregaaende altsaa erfaret, at Chamberlands Filtre give sterile Vædsker; det er da ogsaa en Selvfølge, at de kunne give steril Luft. Ligesaa store Vanskeligheder, som Vædskerne i den Retning frembyde, ligesaa let gaar det, naar Talen kun er om Luften; det er en gammel kjendt Sag, og de af Schröder og Dusch i deres berømte Forsøg fra 1854 over Generatio spontanea benyttede simple Bomuldsfiltre have, som bekjendt, ogsaa fundet en stor og forskjelligartet Anvendelse i Praxis.

For at erholde Oplysning om, hvorledes saadanne Filtre af Bomuld til det foran beskrevne Rendyrknings-Apparat paa den mest praktiske Maade kunde indrettes, anmodede jeg Hr. Assistent Poulsen om at anstille en Række Forsøg, hvoraf Resultaterne nedenfor meddeles:

Da det fandtes, at Metalrør som de i Fig. 4 og 6 (*g* og *m*) afbildede have en for den øvrige Opstilling passende Form og Størrelse, bleve Forsøgene anstillede dermed. I disse Rør kan, som det foran er meddelt, optages en Søjle af Bomuld paa 22 Centim. Længde og 3 Centim. Diameter. I den nedadvendte Ende findes et kort Rør med c. $^3/_4$ Centim. i Diameter. Den anden Ende er aaben og forsynet med udvendige Skruegænger, saa at et Mundstykke, endende i et kort Rør opadtil, kan skrues paa. Bomulden blev stoppet ned i smaa Portioner og sammentrykkedes

med Haandkraft ved Hjælp af en rund Træstang. Inden Mundstykket skruedes paa, blev der indlagt Bomuld i dette for at optage grove Urenligheder. Vigtigt er det at lægge Mærke til, at man ikke maa presse Bomuld ind i Mundstykkets Rør. Det er derigjennem, at Luften ledes ind i Filtret, den modsatte Ende, hvor den forlader dette, blev forinden Sterilisationen lukket med en fastsluttende Bomuldsprop. Saaledes forberedt, steriliseres hele Filtret uden nogen Besvær i en almindelig Varmekasse, 2 Timer ved henved 150° C. Da der ifølge Angivelser af Klein kunde være Tvivl om, hvorvidt et Bomuldsfilter, som det vi benyttede, ogsaa i dets Midte blev steriliseret ved en saadan Opvarmning, bleve de nødvendige Forsøg udførte. Disse viste, at ogsaa Delene i Midten vare sterile. Med et saadant steriliseret Filter bleve Prøverne anstillede paa den Maade, at der førtes betydelige Mængder af uren Luft med Tryk af 3—4 Atm. gjennem Filtret og derfra ind i Kolber med steriliseret Gjærvand, hvilket er en meget gunstig Vædske for Bakterier. Disse Kolber stode derpaa mindst 14 Døgn ved en Temperatur af henved 30° C. For at stille Spørgsmaalet med særligt Hensyn til Skimmel- og Gjærsvampe, blev der ogsaa under de samme Omstændigheder anvendt Kolber med steriliseret Ølurt. I alle Tilfælde bleve Forsøgene udførte saaledes, at Luften, for saa vidt den ved sin Indtrædelse i Vædsken indeholdt Kim, da ogsaa maatte komme til at afgive disse. Desuden blev der ved Filtreringens Slutning hurtigt taget Prøver af Bomulden i Rørets øverste Parti, hvilke derpaa strax og med tilbørlig Forsigtighed anbragtes i Kolber med de foran nævnte sterile Næringsvædsker. Det viste sig da, som man maatte vente, at de sidstnævnte Prøver bestandig indeholdt levende Mikroorganismer. Det Samme var ogsaa Tilfældet med Luften, der havde passeret Filtret, hvis dette var løst stoppet, saa at der i det beskrevne Rør kun fandtes 25 Gram Bomuld eller derunder; var det derimod fastere stoppet, med 35 Gram eller derover, var Luften, som havde passeret derigjennem ogsaa under et stærkt Tryk, bestandig befriet for alle sine Kim, den var bleven fuldstændig steril. Ved at anvende nogen Kraft, kan man med temmelig Lethed presse 50 Gram Bomuld sammen i det ofte omtalte Rør, men saa meget behøves som sagt ikke. I de foran beskrevne Forsøg gik der som Regel 16 Liter Luft gjennem hver Kolbes Vædske.

For Anvendelsen i Praxis har det Betydning at faa det Spørgsmaal afgjort: hvor ofte Filtret maa steriliseres. Det kunde nemlig tænkes, at de i den øverste Ende under Indsugningen fastholdte Mikroorganismer kunde formere sig og, naar Filtret

blev fugtigt, efterhaanden trænge igjennem det, hvorved det følgelig blev ubrugeligt. For at erholde Klarhed herover, lode vi nogle af de i de foregaaende Forsøg benyttede Filtre, hvis øvre Del altsaa indeholdt Mikroorganismer, ligge i Laboratoriet 6 Maaneder. De bleve da paany prøvede og paa lignende Maade som tidligere. Resultatet var, at de bestandig gave steril Luft.

Skarpere Prøver bleve derefter anstillede paa følgende Maade: Den i Filtrets Laag værende Bomuld blev neddyppet i Næringsvædsker, som indeholdt en kraftig Vegetation af Bakterier, Gjærceller og af Penicillium glaucum. Herigjennem førtes Luft med 3 Atm. Tryk i Løbet af 2 Timer. Prøvekolberne vare af samme Art som de foran omtalte. Derpaa blev dette fugtige og stærkt inficerede Filter lagt hen i Laboratoriet i 3 Uger og nu underkastet en lignende Prøve som første Gang. Udfaldet blev i begge Tilfælde det samme: Den Luft, som havde passeret Filtret, var steril, ingen af de i Bomuldssøjlens øverste Del værende Mikroorganismer var bleven reven med. I Overensstemmelse hermed viste det sig, at Bomuld fra Filtrets nederste Del ingen Udvikling fremkaldte hverken i Gjærvand eller i Urt; kraftige Vegetationer fremkom derimod, saasnart disse Prøver toges fra de øverste Lag.

Af disse Analyser følger, at man i Maaneder kan benytte saadanne Bomuldsfiltre uden paany at sterilisere dem; en nøjagtig Tidsangivelse, gjældende for alle Tilfælde, kan ikke gives; her maa Erfaringen paa de enkelte Steder være det Afgjørende; tilraadeligt er det i hvert Fald, en Gang imellem at foretage en Sterilisation. Ogsaa maa det vel erindres, at man, naar Filtret paa Urtcylinderen tages af for at lægges hen, indtil det næste Gang skal bruges igjen, da strax bør forsyne dets nederste Munding med en Prop af steriliseret Bomuld og, forinden det skrues paa, borttage denne og rense Mundingen med en Flamme. Ligeledes kan det anbefales, af og til at skrue Laaget af for at ombytte det øverste urene Bomuldslag med steriliseret Bomuld.

Af de nærmest foregaaende Forsøg maa man ikke drage den urigtige Slutning, at disse Filtre kunne sterilisere Vædsker; at Saadant ikke er Tilfældet, er forøvrigt jo ogsaa allerede berørt. Naar Bomuldssøjlen er helt gjennemtrukken med Vædske, hører dens steriliserende Evne op; derfor er det af Vigtighed, at Ledningsrørene mellem Luftbeholderen og Filtrene ikke indeholde Vand (se Bemærkn. p. 282).

Den sidste Række Forsøg, som Poulsen efter min Anmodning udførte, gik ud paa at bestemme, hvormegen Luft der under for-

skjelligt Tryk i en Time gik gjennem Filtrene. Til at maale Mængden af den gjennemstrømmede Luft anvendtes en fin Gasmaaler. For Sammenlignings Skyld blev Chamberlands Filtrer ogsaa prøvet, nemlig et Lerrør, mærket F. Resultatet ses af hosstaaende Tabel:

I. Chamberland-Filter med 1 Rør.

Trykket	1—1¼ Atm.	....	20 Kubf.	i 1 Time.	
—	½—¾ —	....	14	—	—
—	c. ½ —	..	c. 10	—	—
—	c. ¼ —	..	c. 5	—	—

II. Bomuldsfiltret med 50 Gram (c. 0,32 Gr. pr. 1 cc).

Trykket	3 Atm.	...	120 Kubf.	i 1 Time.	
—	1 —	...	15	—	—
—	½—1 —	...	14	—	—
—	⅓—½ —	...	10	—	—
—	c. ¼ —	...	c. 7	—	—

III. Bomuldsfiltret med 35 Gram (c. 0,22 Gr. pr. 1 cc).

Trykket	½ Atm.	...	27 Kubf.	i 1 Time.	
—	⅓ —	...	19	—	—
—	¼ —	..	c. 12	—	—

Aarsagen til, at der i ovenstaaende Rækker ikke blev bestemt flere Størrelser, er den, at Poulsen kun en kort Tid havde Maaleapparatet til sin Raadighed. De af ham fundne Værdier give i hvert Fald ogsaa en god Forestilling om, hvad de to Slags Filtre i den nævnte Retning kunne præstere. Ved at foretage en Sammenligning ses, at Chamberland-Filtret og Bomuldsfiltret med 50 Gram nogenlunde yde lige meget, men at Bomuldsfiltret med 35 Gram i betydelig Grad overgaar dem begge. Det bemærkes, at Forsøgene bleve udførte aldeles paa samme Maade og med det samme Maaleapparat.

Fremstillingen af Gjæren til Rendyrkningsapparatet og dens Forsendelse.

Gjæren, som kræves til at bringe de c. 170 Liter Urt, der findes i Gjæringscylinderen, i normal Gjæring, avles i de 4 p. 277 omtalte Metalkolber. Efterat man heri paa den beskrevne Maade

har erholdt et saa stort Gjærbundfald som muligt, udtappes alt Øllet. Til hver sættes derpaa $^1/_2$—$^2/_3$ Liter steriliseret Vand for dermed at ryste Gjæren løs. Den saaledes stærkt fortyndede Gjær overføres derpaa i steriliserede tohalsede Helliters Glaskolber. Man vil sjelden kunne nøjes med 4, men i Reglen bruge 6 dertil. Disses Indhold overføres endelig i Gjæringscylinderen gjennem Røret (*j*, Fig. 4 og 6). Alle disse Arbejder maa naturligvis udføres saaledes, at Renkulturen bevares.

At overføre Gjæren direkte fra Metalkarrene, lader sig ikke gjøre, naar Indførelses-Røret (*j*, Fig. 4 og 6) findes paa Siden af Cylinderen. Dette Rørs Stilling er imidlertid bestemt af det Hensyn, at det tillige skal kunne tjene til at afgive Prøver i steriliserede Kolber, for at man, naar det ønskes, kan være i Stand til at undersøge, om en Renkultur findes i Apparatet eller ej.

Til at analysere Gjæren og til at fremstille Renkulturen kræves en særegen Indsigt og stor Øvelse, som kun kan erhverves ved i længere Tid at arbejde i et dertil indrettet Laboratorium. Et Hjælpemiddel yde mine forskjellige Skrifter om dette Æmne og navnlig nærværende. Overfor Praktikeren have de den Opgave at gjøre Betydningen af den nye Reform indlysende, saa at han paa en fornuftig Maade kan indføre den i sin Drift; men hvis nærværende Afhandlinger ere skrevne saaledes, som jeg selv ønskede det, da jeg begyndte derpaa, saa ville de tillige vise, at han ikke selv kan magte disse vanskelige Arbejder, men maa søge Hjælp dertil hos Sagkyndige.

Denne er i vor Tid ikke vanskelig at erholde; nogle Bryggerier have selv indrettet Laboratorier, men i Almindelighed benyttes offentlige Anstalter; det Sidste vil vistnok i de fleste Tilfælde være det mest praktiske. Følgende offentlige Laboratorier have optaget mine Methoder i deres Program: A. Jørgensens Laboratorium, Vesterbrogade i Kjøbenhavn, Forsøgsstationerne for Bryggerivæsen i Berlin, Nürnberg, München, Wien og Prag, Wahls og Henius' Laboratorium i Chikago; hertil kan endelig føjes Marx's Laboratorium i Marseille, fra hvilket sidste, skjøndt det ikke er offentligt, dog flere franske Bryggere have faaet Rendyrkninger. Muligvis findes der andre, som jeg ikke kjender; naar de ikke nævnes, maa dette altsaa ikke opfattes som en Mangel paa Hensyn fra min Side. Til disse Anstalter tillader jeg mig at henvise de Etablissementer, som ønske Hjælp i de nævnte Retninger. Carlsberg Laboratoriet har som Forskningsanstalt andre Opgaver og kan ikke beskjæftige sig dermed.

De i Bryggeriet Gl. Carlsberg førte to Gjærarter, Nr. 1 og Nr. 2 faas ligesom tidligere ved direkte Henvendelse til Kapt. Kühle.

Bryggeren maa selv passe Apparatet, og hvis der ikke er et zymoteknisk Laboratorium i Nærheden, maa han ogsaa som Regel selv overføre Gjæren i Gjærcylinderen. Ofte vil han være nødsaget til at forskrive Gjæren langvejs fra; i den Anledning har jeg udarbejdet følgende Fremgangsmaade. Jeg havde herved det Maal for Øje, at Forsendelsen skulde foregaa med den størst mulige Sikkerhed, og at det Hele skulde være simpelt; Bryggeren skulde kun behøve at ryste vedkommende Kolbe med Gjær og derpaa sætte den i Forbindelse med det lille Siderør (*j*) paa Gjæringscylinderen (Fig. 4 og 6), al Gjæren skulde da med Lethed kunne udtømmes i denne. Disse Hensyn bevirkede, at jeg valgte en Glasballon, at jeg gjorde den stærk og temmelig lille og overhovedet saaledes som nedenfor beskrevet:

Der anvendes en Kolbe paa 1½—2 Liter som hosstaaende Fig. 8, af tykt, stærkt Glas og med flad Bund, saa at ingen Brix behøves. I Fig. 9 ses et Længdesnit af det rette Rør; *c* er Glasrøret, hvis Munding er forsynet med en lille Krave; *b* er en tætsluttende Kautschukprop, *a* en derover spændt stærk Kautschukhætte, som ved *d* er gjort fast med Kobbertraad, i Fig. 8, *a* ses denne Overbinding tydelig. Kautschukproppen (*b*, Fig. 9) maa ikke blot lukke nøjagtig, men tillige være indrettet saaledes, at den med temmelig Lethed kan tages ud, naar Hætten (*a*) fjernes. Med Kolbens bøjede Hals (*d*, Fig. 8) er en Kautschukslange (*b*) forbunden, i hvis nedadvendte Munding et Glasrør (*c*) findes. Denne Slange maa være stærk og gjort fast med de to Rør ved Hjælp af Metaltraad; i Nærheden af Mundingen af den bøjede Hals findes en Klemme, som fuldstændig kan lukke Slangen. Glasrøret indeslutter et Bomuldsfilter.



Fig. 8.

Man anbringer ikke mere Bomuld i dette, end der er nødvendig for at hindre Luftens Kim i at trænge ind i Kolben, naar

dennes Vædske gjennem det rette Rør (*a*, Fig 8) gydes ud. Ved at anvende dette Filter, undgaar man at benytte en Flamme. Kautschukdelene steriliseres ved Kogning i Vand, det Øvrige ved 2 Timers Opvarmning ved c. 150° C. i en Varmekasse. Glasrørenes Mundinger lukkes i Forvejen med Bomuldspropper. Da Kolben er af tykt Glas, maa der anvendes en vis Forsigtighed; den stilles derfor paa en Korkbrix, som atter hviler paa en Asbestplade, og der sørges for, at Temperaturen foroven og forneden i Kassen ikke viser altfor store Differenser. Efter Afkølingen tages Bomuldsproppen ved *b*, Fig. 8, bort, hvorpaa Kautschukslangen, Klemmen og Røret med Bomuldsfiltret hurtigt anbringes paa deres Plads.

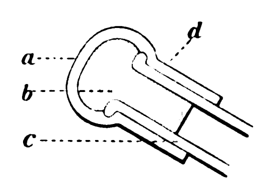


Fig 9.

I denne Kolbe overføres den Gjærmængde, som efter den foran beskrevne Fremgangsmaade er avlet i et af Metalkarrene paa 10 Liter, p. 277, og der fyldes derpaa op med steriliseret Vand, indtil Kolben er omtrent ³/₄ fyldt. Tilsidst anbringes Proppen (*b*), Hætten (*a*) og Metaltraadsbaandene ved *d*, Fig. 9, samt lukkes med Klemmen paa Kautschukrøret (*b*, Fig. 8). Hermed er Kolben færdig til Indpakning. Denne bør være saaledes, at Kolben, naar den tages ud, har en steril Overflade, hvilket vil kunne opnaas ved f. Ex. at omgive den med Bomuld eller en anden Masse, som i Forvejen er bleven udsat et Par Timer for den netop nævnte høje Temperatur. Vedkommende Laboratorium bør ledsage Forsendelsen med en udførlig og tydelig Anvisning, hvori det Vigtigste særlig er fremhævet.

Efter min Opfordring var Jørgensens Laboratorium saa venligt at prøve denne Fremgangsmaade ved nogle Forsendelser fra Kjøbenhavn til Helsingfors og Rotterdam. Resultatet var i alle Tilfælde gunstigt.

Den i Ballonen indeholdte Gjærmasse vil være tilstrækkelig til paa sædvanlig Maade at bringe 50 Liter Urt i Gjæring. Udmaalingen heraf kan foretages ved Hjælp af Vædskestandsrøret (*f*, Fig. 4 og 6) og behøver ikke at være nøjagtig. Har det Rum, hvori Gjæringscylinderen staar, en Temperatur af c. 8° C., saa kan man efter 4—5 Døgn fylde op med ny Urt, indtil det øverste Mærke paa Glasrøret (*f*), og Apparatet er da i regelmæssig Gang; hvis Udviklingen gaar langsomt for sig, maa man vente noget længere.

Til Forsendelse af Renkulturer i absolut ren Tilstand og saaledes, at de med Lethed og Sikkerhed kunne formeres, har jeg ligeledes med et godt Udfald anvendt følgende Fremgangsmaade:

Paa de smaa cylinderformede Kolber, som almindelig kaldes Freudenreichs, lod jeg anbringe et Siderør (Fig. 10). Røret *a*, hvormed Hætten ender, fyldes som sædvanlig med Bomuld; i Kolbens opadvendte Munding (*b*) anbringes ligeledes en temmelig fast Prop deraf, og endelig et fastliggende Lag (*e*) paa Bunden. Efterat det rette Rør ligeledes er blevet forsynet med sin Bomuldsprop, steriliseres den saaledes præparerede Kolbe ved 2 Timers Opvarmning paa den foran beskrevne Maade. Efter Afkølingen sættes det rette Rør i Forbindelse med Kautschukslangen paa en tohalset Glaskolbe, i hvilken vedkommende Gjær er avlet. En Draabe heraf lader man i tykflydende Tilstand løbe ned i Bomuldslaget (*e*). Derpaa lukkes Røret med en flammerenset Asbestprop (*d*), og ovenover den anbringes atter en Hætte af Lak (*c*).

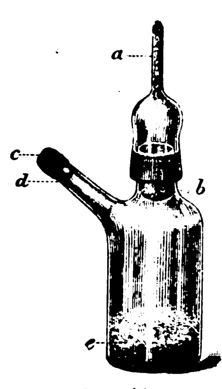


Fig. 10.

En Hovedopgave for mig ved Konstruktionen var at forhindre Gjæren i at blive inficeret, uden dog at lukke Kolben lufttæt til. Det er derfor, at Bomuldslaget (*e*) maa presses fast i Bunden, saa det ikke forlader sin Plads, og derfor bør man heller ikke med Gjærcellerne føre mere Vædske deri end højst nødvendigt. Skulde alligevel, naar Hætten bliver vendt nedad, lidt Vædske træde ud af Bomuldslaget paa Bunden, saa vil den dog ikke kunne komme udenfor; thi det rette Rør er fuldstændig lukket, og i Mundingen (*b*) vil den blive optagen af Bomuldsproppen.

Naar denne Gjær senere skal anvendes, afskrabes Lakhætten (*c*); det rette Rør ligesom den øvrige Yderflade af Kolben renses med en Flamme; ved Hjælp af en flammerenset Pincet skydes Asbestproppen ned i Kolben eller trækkes op, hvorpaa Røret hurtig føres ind i Kautschukslangen paa den tohalsede Kolbe med Næringsvædske; ogsaa kan man, hvis man ikke ønsker at arbejde med de tohalsede Kolber, let ved Hjælp af en Pipette føre steril Næringsvædske gjennem det rette Rør til Cellerne i Bomuldslaget (*e*). I Stedet for dette kan der ogsaa anvendes et Gelatinelag, men da et saadant er vanskeligt at sterilisere fuldstændigt, naar det ikke derved tillige skal miste Evnen til at stivne, saa foretrak jeg altid Bomulden.

Fortegnelse over de Bryggerier, i hvilke Rendyrkningsapparatet findes.

Det blev foran meddelt, hvorledes Apparatet, da det skulde opstilles paa Ny-Carlsberg, i visse Retninger maatte ændres efter de lokale Forhold. En anden Modifikation skyldes Dr. Elion, Laboratorieforstander i Heinekens Bryggeri i Rotterdam. Den bestaar væsentlig deri, at han har indført en Sterilisator. I den forangaaende Beskrivelse gik vi ud fra, at den koghede og altsaa sterile Urt blev tagen fra Bryggeriets Hovedledning, førend den træder ud paa Svalebakkerne. Dette er nemlig den mest praktiske Maade, paa hvilken Urtcylinderen kan forsynes med steril Urt. Man vil derfor endog i saadanne Bryggerier, hvor Ledningen hertil maa blive temmelig lang, dog vælge denne Fremgangsmaade; det er f. Ex. sket paa Tuborg ved Kjøbenhavn. Overhovedet findes der næppe ret mange Tilfælde, i hvilke man ikke kan indrette sig saaledes.

Tillade de lokale Forhold imidlertid ikke, at man slipper saa let igjennem, maa man, efterat Urten er kommen i Cylinderen, sterilisere den ved Kogning og derefter, som foran beskrevet, nedsvale og lufte den; Arbejdet bliver herved vanskeligere og tager længere Tid, men uoverkommeligt er det ikke. Det er dertil, at Dr. Elion har omgivet sin Urtcylinder med en Dampkappe. Hr. W. E. Jensen i Kjøbenhavn anvender derimod hertil et Slange-Rørsystem, som føres ind i Urtcylinderen.[1])

I temmelig høj Grad forskjellig fra de beskrevne er det af Louis Marx konstruerede Rendyrkningsapparat. Det er imidlertid kun beregnet paa at give Gjær til 1 Hektoliter Urt ad Gangen. I sit Laboratorium i Marseille har Marx tre af disse Apparater i Gang til Fremstilling af de Rendyrkninger, som han sender til forskjellige franske Bryggerier, og de have hertil gjort god Nytte.[2])

Det af Kapt. Kühle og mig konstruerede Apparat findes nu i følgende Bryggerier:

I Danmark:

Gl. Carlsberg, Ny Carlsberg og Tuborg ved Kjøbenhavn, Ceres i Aarhus og Albani i Odense.

---

[1]) Det erholdes hos det nævnte Firma for 50 Kroner.

[2]) I flere Bryggeritidsskrifter har jeg af og til set Meddelelser om andre Rendyrkningsapparater end de omtalte og Henvisning til Patenter, som ere tagne derpaa. En tydelig Beskrivelse fandt jeg dog aldrig, men derimod Misforstaaelse af det Væsentlige i Opgaven. Undertiden havde vel disse Opdagere i god Tro givet det Bedste, de formaaede, men hyppigere stak Forretnings-Reklamen frem.



I Norge:

Ringnes i Christiania.

I Finland:

Sörnäs ved Helsingfors.

I Rusland:

Trochgorny og Karneeff et Gorschanoff i Moskou, Kalinkin i St. Petersborg.

I Holland:

Baartz et Zoon i Rotterdam.

I Tydskland:

Viktoria i Berlin.

Hos Baartz et Zoon anvendes Overgjæring, alle de andre Steder Undergjæring. Dr. Elions Modifikation findes i Heinekens Bryggeri i Rotterdam og i Böhmischem Brauhause i Berlin. Paa Gl. Carlsberg anvendes 3 Gjæringscylindre, paa Ny Carlsberg 2, i Kalinkin 2 og i Viktoria-Bryggeriet 2, i hvert af de øvrige Bryggerier 1.

De nævnte Bryggerier udgjøre, som foran anført, kun en ringe Del af dem, der nu anvende mit System. Hovedsagen er og bliver den absolute Renkultur af den planmæssigt udvalgte Gjærart; kun herved faar Rendyrkningsapparatet sin Betydning. Der erholdes gode Resultater med Rendyrkningen efter min gamle Fremgangsmaade, men ikke, hvis Apparatet anvendes med en uren Gjær.

III.

Iagttagelser over Bryggeri-Gjærarter.

De foregaaende Arbejder hvile paa den Anskuelse, at Saccharomyceterne optræde som bestemte Arter, og at der er Konstans i de af mig udfundne Karakterer. Hvis disse Organismer, som nogle Forskere endnu ere tilbøjelige til at mene, med Lethed kunde flyde over i hverandre, saa Grændserne udvidskedes, vilde mine Undersøgelser i praktisk Henseende tabe den største Del af deres Betydning. Det er derfor ogsaa herimod, at mine Modstandere rettede et af de vigtigste Angreb.

At en systematisk Undersøgelse af Gjærarterne maa begynde med Endosporerne, og at den maa blive experimentel, ligger i Sagens Natur. Herfra tog jeg ogsaa Udgangspunktet for mine Studier paa dette Omraade. Af disse lærte vi ikke blot, at der gives forskjellige Saccharomyces-Arter, men vi erholdt herigjennem tillige for første Gang bestemte Karakterer for disse. Det viste sig nemlig, at Temperaturkurverne for Sporernes Udvikling vel have hovedsagelig samme Form, men at Kardinalpunkterne, navnlig de af Maximums- og Minimumstemperaturer betingede, give karakteristiske Skjelnemærker. Ogsaa i andre Retninger erfarede vi, at der er Forskjel i den Maade, hvorpaa Arterne reagere overfor Temperaturerne: I destilleret Vand naas Dødsgrændsen f. Ex. ved en forskjellig Varmegrad hos de forskjellige Arter, naar Alt forøvrigt er lige, og Differenser træde ligeledes frem med Hensyn til Knopskydning, Gjæringsvirksomhed, Hindedannelse o. s. v.

Naar de dyrkes under ensartede Forhold, kan Cellernes Form yde Karakterer for Grupper og undertiden tillige for Species; dette gjælder saavel om Bundgjær- som om Hindevegetationerne og ikke blot, naar Dyrkningen foregaar i Vædsker, men ligeledes, naar den finder Sted i et fast Næringssubstrat. Næsten alle

Saccharomyces-Arter kunne vel optræde med de samme Former, og idetmindste for de flestes, omend ikke for alles Vedkommende gjælder det, at enhver af dem i sin Udviklingskreds kan omfatte alle de af Reess opstillede Species, men de samme Former komme hos de forskjellige Arter ikke frem under de samme Betingelser. Karakteren ligger altsaa ikke i Formen for sig alene, som man tidligere antog, men tillige i de ydre Vilkaar, som fremkalde den.

Tydelige Differenser vise de i deres Forhold til Sukkerarterne, navnlig Maltosen, og overhovedet i de kemiske Omsætninger, som de fremkalde i Næringsvædsker. I Forbindelse hermed staar ogsaa, at nogle kunne anvendes i Industrien, andre derimod ikke, og at nogle endog fremkalde, hvad man kalder Sygdomme i Øllet.

Ogsaa overfor flere Farvningsmethoder viste der sig Differenser, dog kun graduelle.

Af større Betydning, idetmindste for den praktiske Analyse, synes den Differens at være, som under visse Dyrkningsforhold træder frem i Bygningen af Kultur-Undergjærarternes og de vilde Gjærarters Sporer[1]). Holde vi os kun til det mikroskopiske Billede, viser den sig deri, at Sporen hos de førstnævnte indeholder mindre tæt Plasme og af en svagere Lysbrydning; i Reglen finder man Vakuoler deri, og ofte har den Udseende af at være udtømt, i hvilket Tilfælde Væggen altsaa træder tydeligt frem; i Modsætning hertil er Sporen hos de vilde Gjærarter fuldstændig udfyldt med ensartet, temmelig stærkt lysbrydende Plasme. Kort efter at jeg i mit foran citerede Foredrag havde gjort opmærksom derpaa, indløb der fra andre Forskere Meddelelser til mig om, at

---

[1]) De ovenfor berørte Undersøgelser har jeg offentliggjort i nærværende Tidsskrift 1882, 1883, 1886 og 1888. En Oversættelse af de franske Résumés findes i de tilsvarende Aargange af Zeitschr. für das ges. Brauwesen. München. Om Gjærcellernes Forhold i fast Næringssubstrat og om den ovenfor omtalte Differens i Sporernes Bygning gav jeg en kortfattet Meddelelse i mit Foredrag i Graz 12 Juni 1887. (Se Zeitschr. für Bierbrauerei, Wien 1887, p. 518, og Centralbl. für Bacteriologie und Parasitenkunde, 1887, II B., p. 118.).

Ved Navnene »Kulturgjær«, »Kulturarter« o. s. v. betegnes ikke, at disse Arter ere opstaaede under Kulturens Indvirkning, thi derom vides endnu Intet, men kun, at de anvendes i Industriens Tjeneste. Alle andre Saccharomyceter kaldes i Modsætning hertil for »vild Gjær«, »vilde Gjærarter«. Saavidt Undersøgelserne endnu gaa, maa vi antage, at ikke blot de saakaldte vilde Gjærarter, men ogsaa Kulturarterne optræde i den frie Natur.

de havde gjort en lignende Iagttagelse, og Opfordring om snart at give en udførlig Oplysning om dette Forhold. Det viser sig imidlertid her som sædvanlig, naar man underkaster et Spørgsmaal en indgaaende experimentel Behandling, at det rummer flere Sider, end man i Begyndelsen tænkte, og at der til dets Løsning kræves en lang Række Studier. Se vi bort fra de Vanskeligheder, som den mikroskopiske Undersøgelse for sig alene frembyder, naar den skal give os bestemte Udtryk for det foreliggende Bygningsforhold, saa viser dette sig dog temmelig sammensat. Øl-Undergjærarter kunne nemlig ogsaa optræde med tæt plasmefyldte, glindsende Sporer, og omvendt kunne de vilde Gjærarter danne Sporer med den hos Øl-Undergjærarterne omtalte Bygning. Paa dette Sted, hvor Talen er om Differenser mellem Arterne, kan det endvidere have sin Interesse at fremhæve, at medens nogle, som f. Ex. min Sacch. Pastorianus I, med Lethed bringes til at udvikle Sporer med det omtalte Udseende af at være udtømte, er dette derimod meget vanskeligt med andre, f. Ex. Sacch. ellipsoideus II. At der er et ejendommeligt Bygningsforhold tilstede, som i Analysen af Øl-Undergjær kan faa Betydning, vise alle de hidtil af mig anstillede Undersøgelser; de ville derfor ogsaa i sin Tid blive offentliggjorte i Fortsættelsen af mine »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«.

Selvfølgelig kan man ikke i alle Tilfælde ved Hjælp af en enkelt af de foran fremhævede Karakterer skjelne imellem Arterne, men maa ofte anvende flere. Af væsentlig Betydning have de Karakterer vist sig at være, som Sporernes Udviklingsgang yde; i praktisk Henseende fordi de sætte os i Stand til uden foregaaende Rendyrkning direkte at foretage en Analyse af Bryggeri-Undergjær, naar Spørgsmaalet er, om der findes Sygdomsgjær deri eller ej.

Vi have altsaa fundet en Række Saccharomyceter, som reagere forskjellig overfor ydre Indvirkninger. At de iagttagne Karakterer ikke aldeles ere af den Natur, som de, vi kjende hos højere Organismer, kan ikke forundre os, naar vi erindre, at vore Organismer kun ere encellede. Skulle vi imidlertid opfatte dem som Arter, saa maa de fundne Skjelnemærker ogsaa være konstante. For at komme til Kundskab om, hvorvidt dette er Tilfældet eller ej, maa vi atter anstille særlige Forsøgsrækker, idet vi gjennem lange Tidsrum udsætte de antagne Arter for forskjellige Livsbetingelser, dels hver enkelt for sig i absolute Renkulturer, dels flere sammenblandede, altsaa under Konkurrencens Indflydelse. Af saadanne planmæssige Studier har jeg i Løbet af de sidste

4—5 Aar udført store Rækker, navnlig med de 6 Arter, som jeg i 1883 indførte i Literaturen, senere desuden med nogle andre, deriblandt ogsaa Bryggeri-Undergjærarter. Resultatet blev, at det var forholdsvis let at fremkalde foreløbige, ofte dybt indgribende Variationer i forskjellig Retning, men at de ved passende Dyrkning atter forsvandt, hvorefter vedkommende Art gik tilbage til sin tidligere Tilstand; at frembringe nye Arter lykkedes hidtil ikke. Praktisk Interesse for os har det, at Arterne under flere Aars uafbrudte Kultur i Ølurt kun viste smaa Svingninger. Min Erfaring gaar kort sagt ud paa, at vi med samme Ret kunne tale om Species hos disse lavtstaaende Svampe som hos de højerestaaende.

Disse Resultater maatte her omtales, fordi de, som ovenfor berørt, danne Grundlaget for mine praktiske Arbejder; en udførlig Fremstilling deraf har derimod ikke sin Plads paa dette Sted, men i Rækken af mine theoretiske Undersøgelser, og den vil ogsaa i sin Tid der blive meddelt. Vi skulle her kun lidt nærmere omtale efterfølgende to Forsøgsrækker, som have særlig Interesse for Bryggerivæsenet.

Den første behandler de individuelle Ejendommeligheder, der kunne optræde hos Bryggeri-Undergjær; ved denne Lejlighed skal jeg dog kun tale om de Udtryk, de give sig i Cellernes Form. Set fra denne Side, har Spørgsmaalet nemlig praktisk Betydning for os, naar vi skulle fremstille Renkulturer, hvad enten til Brug i Laboratoriet eller i Driften.

Det erindres, at vi efter den af mig angivne Fremgangsmaade bestandig gaa ud fra een eneste Celle. Vi tænke os nu, at vi saaledes have erholdt en absolut Renkultur, f. Ex. af Carlsberg Undergjær Nr. 1; jeg nævner netop denne Art, fordi mine fleste Forsøg bleve anstillede med den. Nogle af denne Renkulturs Celler udryste vi derpaa i Urt-Gelatinelaget paa Undersiden af det til vort fugtige Kammer befæstede Dækglas, og mærke os derpaa de Celler, hvis Stilling er en saadan, at de hver for sig kunne danne sin makroskopisk kjendelige Vegetationsplet uden at smelte sammen med andre i Nærheden. Disse Pletter, hvorom vi følgelig med Sikkerhed vide, at enhver har udviklet sig af een eneste Celle, ere dog ofte meget forskjellige, idet nogle bestaa af Celler, som paa Grund af deres pølsedannede og langstrakte Skikkelse efter Reess kunne henføres til Sacch. Pastorianus, og andre, som derimod nærmest have den Form, hvorunder vi efter det gamle System i Almindelighed tænke os Sacch. cerevisiæ. Og dog tilhøre begge een og samme Art, begge stamme fra en Udsæd af een

Celle. Ved at gjentage Forsøget kunne vi erholde yderligere Sikkerhed derfor. Fra disse Pletter inficeres derpaa nogle Kolber med Urt, saaledes at enhver i den ene Række kun modtager Celler fra en af Pletterne med den pastoriane Form, og enhver i den anden kun Celler fra en af Pletterne med Cerevisiæ-Formen. De Vegetationer, vi saaledes erholde i Urten, vise den samme Differens, men ved at fortsætte denne Dyrkning bliver Forskjellen imellem de to Rækker bestandig mindre, idet de pølsedannede Celler efterhaanden forsvinde, saa at alle Vegetationerne tilsidst komme til at bestaa af ovale. I et Tilfælde maatte der dog foretages 7 saadanne Dyrkninger, inden de ovale Celler havde faaet Overvægt i de Kolber, hvis oprindelige Udsæd bestod af pølsedannede. Dette varede omtrent 2 Maaneder. Forsøgene udførtes paa den Maade, at der fra den nærmest foregaaende Kultur overførtes en meget lille Gjennemsnitsprøve af Bundgjæren til den følgende. At der bestandig droges Omsorg for, at Renkulturerne bleve bevarede, følger af sig selv.

Medens de pølsedannede Celler endnu vare i betydelig Overvægt, indførte jeg en Portion deraf i det foran beskrevne Rendyrkningsapparat i Gjærkjælderen paa Gl. Carlsberg. Allerede efter en halv Snes Dage havde de frembragt en Vegetation, der hovedsagelig bestod af ovale Celler, og da disse gik over som Paasætningsgjær i et større Kar, udvikledes der strax en typisk Avl af ovale Celler.

Den ovale Form blev paa lignende Maade prøvet i Driften, hvor den vedblev at være oval. Begge frembragte Øl af samme Beskaffenhed, og de viste altsaa ogsaa paa denne Maade, at de tilhørte een og samme Art.

Vi lære blandt andet af disse Forsøg, at der var Forskjel paa de de enkelte Celler (Individerne) iboende Egenskaber, og som en Følge heraf gave vore mikroskopiske Undersøgelser af Gjærpletterne i Urt-Gelatinen ligesaa lidt som af de dermed anstillede første Urtkulturer os sikre Oplysninger om vedkommende Art. Dette er et nyt Bevis for, hvor ringe Værdi den mikroskopiske Undersøgelse for sig alene har, naar det gjælder om at analysere en Gjærprøve. De nye Forsøg vise os endvidere, at vi, hvis vi ønske at benytte Cellernes Reaktion overfor ydre Indvirkninger som Arts-Mærker, da aldrig udelukkende tør gaa ud fra en enkelt Celles, men maa tage Summen af talrige Cellers Reaktioner. Andre Bryggeri-Undergjærarter gave under de skildrede Forhold lignende Resultater.

Til Belysning af det berørte Problem kan endnu følgende Forsøg meddeles:

Naar vi foretage Spredekulturer i Urtgelatine, sker det hyppigt, at to eller flere Celler komme til at ligge saa tæt ved hverandre, at de i Forening danne een Plet. En saadan kan naturligvis ikke bruges, naar Opgaven er at fremstille en Renkultur, men hvis vi, som i det foreliggende Tilfælde, begynde med en saadan, ville selvfølgelig Pletter af den nævnte Beskaffenhed ligesaa godt som de, der hver kun ere dannede af een eneste Celle, indeholde Renkulturer, og alle Pletter overhovedet, forudsat at fremmede Mikroorganismer ikke snige sig ind, bestaa af een Art.

Holde vi os nu netop til de Pletter, hvoraf hver enkelt oprindelig blev dannet af flere Celler, kunne vi ofte finde et større Antal, hvis Vegetationer under Mikroskopet se nogenlunde ens ud, idet de bestaa af en Blanding af ovale og pølsedannede Celler; men inficere vi et tilsvarende Antal Urtkolber, hver fra sin Plet, kunne vi dog i disse erholde to Rækker temmelig forskjellige Vegetationer, i den ene med de Pastoriane, i den anden med Cerevisiæ-Formen i Overvægt. Idet vi vide, at hver af Pletterne fra Gelatinekulturerne oprindelig blev dannet af flere Celler, bliver den nærmeste Forklaring denne, at de to Celleformer have været tilstede i et forskjelligt Forhold i den Udsæd, som Kolberne modtoge, eller, hvis dette ikke var Tilfældet, at den ene Celle-Form har havt større Kraft end den anden i den stedfindende Konkurrence.

I dette Tilfælde var Differensen ikke saa skarp som i det først beskrevne, og ved fortsat Dyrkning i Urt forsvandt den ligeledes aldeles, idet alle de nydannede Celler ogsaa her antoge den ovale Form.

Om en endnu videregaaende Omdannelse af Øl-Undergjærens sædvanlige ovale Celler til langstrakte, pølsedannede, under Indflydelse af en bestemt Temperatur har jeg allerede i en af de citerede Afhandlinger fra 1883 givet Oplysning; men da dette Forhold ikke har direkte praktisk Betydning, forbigaas det.

Ret beset, er der intet Paafaldende i de berørte Fænomener og næppe Andet, end hvad vi ogsaa kjende fra højere stillede Svampe.

Som bekjendt, ere Meningerne endnu delte om, hvorvidt Bryggeriernes Over- og Undergjær udgjøres af een eller flere Arter. Hos Reess udtales med Bestemthed den Anskuelse, at det er to Varieteter af eet og samme Species, Sacch. cerevisiæ, og at den ene kan omdannes til den anden, navnlig fremhæver han, hvorledes

Ale-Overgjær, efter i nogle Dage at være dyrket i Urt ved 4—6° C., blev omdannet til en typisk Undergjær.

Pasteur indtager, som det erindres fra en af de foregaaende Afhandlinger, p. 262, intet bestemt Standpunkt med Hensyn til Spørgsmaalene om Saccharomyceterne, men indskrænker sig til at diskutere forskjellige Muligheder; nærmest tilbøjelig er han dog til at mene, at Bryggeri-Undergjær let kan udvikle sig til Overgjær, og at dette ligeledes finder Sted i Bryggerierne selv.

Ogsaa andre Forfattere have beskjæftiget sig med dette Spørgsmaal; men overbevisende Forsøg gaves ikke, der blev ikke experimenteret med virkelige Renkulturer, og som oftest blev det ikke en Gang afgjort, om vedkommende Gjærceller tilhørte Slægten Saccharomyces eller ej. Spørgsmaalet maatte tidligere ogsaa være særlig vanskeligt at behandle, naar man erindrer, at den almindelige Øl-Undergjær hyppig indeholder Overgjær-Arter og omvendt. De Slutninger, man i denne og lignende Retninger byggede paa Iagttagelser fra Bryggeridriften selv, maatte under de forhaandenværende Omstændigheder naturligvis blive uden Værdi. Der kunde i det Højeste være Tale om at gjætte paa forskjellige Muligheder; derfor finde vi ogsaa i Literaturen, endog i den nyeste Tid, modstridende Meninger fremsatte, uden at det er muligt deraf at se, hvad der er det Rette.

Siden Begyndelsen af 1884 har jeg anstillet planmæssige Forsøg over disse Spørgsmaal. I alle Tilfælde blev der anvendt absolute Renkulturer, og Dyrkningen foretagen i de ofte beskrevne tohalsede Kolber med steril Ølurt. De Undergjærarter, hvormed jeg experimenterede, vare Sacch. Pastorianus I, Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II, Carlsberg Undergjær Nr. 1 og do. Nr. 2 samt nogle andre i Driften prøvede Øl-Undergjærarter. Forsøgene bleve anstillede ved almindelig Stuevarme, og Urten temmelig hyppig fornyet, saa at der blev avlet talløse Generationer ved en Temperatur, som ellers fremkalder Overgjæring, og med Mellemrum bleve de desuden prøvede ved en højere Varmegrad, nemlig 25—30° C. Overgjæringsfænomener indtraadte imidlertid ikke, de vedbleve at være Undergjærformer; for nogle Arters Vedkommende bleve dog disse Forsøg fortsatte i over 4 Aar.

Paa lignende Maade har jeg ligeledes siden Begyndelsen af 1884 dyrket de to meget udprægede Overgjærarter Sacch. cerevisiæ I og Sacch. Pastorianus III, men ved Undergjæringstemperatur, nemlig 5—7° C. I dette Tilfælde blev Næringsvædsken fornyet omtrent hver fjortende Dag. Saalænge Kolberne stode ved den angivne lave Varmegrad, var Gjæringen meget svag, navnlig for den først-

nævnte Arts Vedkommende, og altsaa uden Tegn til Overgjæringsfænomener; disse indtraadte derimod, saasnart Dyrkningen fandt Sted ved almindelig Stuevarme eller 25° C., og saaledes vare Forholdene bestandig, ogsaa da Kolberne sidste Gang bleve prøvede efter 4 Aars Dyrkning.

Naar man ønsker at bringe en svækket Overgjær tilbage til den Tilstand, i hvilken den atter viser Overgjæringsfænomener, vil man i Reglen naa hurtigere til Maalet, hvis man ikke blot foretager Dyrkningen ved en gunstig Temperatur, men tillige lufter vedkommende Vædske kraftigt.

I Følge de ovenfor fremsatte Grunde ere de saaledes beskrevne Forsøg de eneste af alle hidtil udførte, som have Beviskraft, og det Resultat, de bragte, er altsaa, at Over- og Undergjærarterne ikke, som Nogle mene, under Indvirkning af en bestemt Temperatur kunne bringes til at gaa over i hinanden. At Undergjærarterne ejheller gjennem deres Hindeformer, som Pasteur synes at antage, kunne udvikle sig til Overgjærformer, har jeg vist i min foran omtalte Afhandling om Hindedannelsen hos Slægten Saccharomyces. Sammesteds omtales ogsaa, hvorledes Undergjærarterne efter en vis Behandling kunne vise Overgjæringsfænomener gjennem nogle faa Gjæringer, hvorefter de atter vende tilbage til det Normale. Foreløbige Omdannelser kunne vi som sagt fremkalde, blivende derimod ikke. Om dette ikke ved at variere Forsøgene maaske kunde naas, er en anden Sag, her tales kun om Kjendsgjerninger, og disse vise i hvert Fald, at saadanne Omdannelser ikke foregaa under Bryggeriforholdene. Forsøgene af Reess og Pasteur kunne vi ikke forklare paa anden Maade, end at de maa have arbejdet med Blandinger af Over- og Undergjær, hvilket let kunde ske paa den Tid, disse Forsøg bleve anstillede.

Den omtalte Overgjærform, Sacch. cerevisiæ I, udgjorde i 1882 Hovedbestanddelen af en i Bryggerierne i Edinburgh og London almindelig benyttet Gjær; det er ikke usandsynligt, at den endnu der spiller en betydelig Rolle, nærmere Undersøgelser derover har jeg dog i de forløbne Aar ikke anstillet. At der foruden denne gives andre Kultur-Overgjærarter i de engelske og skotske Bryggerier, er sikkert; ogsaa i de danske anvendes forskjellige Arter.

Saaledes som min i det Foregaaende beskrevne Forskning udviklede sig, maatte de vilde Gjærarter og da navnlig de, der fremkalde Sygdomme i Øllet, først blive behandlede, og derefter Kultur-Undergjærarterne. Paa Grund af den ringe Betydning, som

Overgjæringen har, saavel herhjemme som i de fleste andre ølbryggende Lande, bleve de i denne Fabrikation anvendte Arter kun skjænkede en ringe Opmærksomhed; en gjennemført systematisk Undersøgelse blev kun givet af den ovenfor nævnte Sacch. cerevisiæ I.

Endnu i 1881 udtalte jeg i et af mine Skrifter den Opfattelse, at den i Bryggerierne anvendte Undergjær kun udgjordes af een Art, Sacch. cerevisiæ; det var da den almindelige Mening. Den forskjellige Maade, hvorpaa Gjæren vel kunde vise sig, mente man, skyldtes væsentlig de lokale Forhold, og man antog, at de iagttagne Differenser med Lethed kunde flyde over i hverandre. Man havde efterhaanden vænnet sig til at tale om Sacch. cerevisiæ som om en bestemt og godt kjendt Størrelse, og saaledes optraadte den ogsaa i Arbejderne fra Carlsberg Laboratorium indtil Slutningen af 1881. Det var først da, at det lykkedes for mig at give Spørgsmaalet sin experimentelle Behandling. Herved fik jeg da snart et helt andet Syn paa Sagen, og Hovedresultatet blev, som jeg i en af mine Afhandlinger fra 1886 fremhævede, at den Forestilling, der hidtil har været knyttet til det systematiske Navn Sacch. cerevisiæ (Undergjærform) er urigtig; thi der indbefattes derunder ikke een, men flere morfologisk og fysiologisk forskjellige Former, hvilke man med den samme Ret, som det nu er sket med talrige andre vel karakteriserede Mikroorganismer, kan betegne med særegne Artsnavne.

Jeg anstillede disse Undersøgelser efter de foran angivne Principer og med Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2. Ved det førstnævnte Navn betegnes, som det erindres, en bestemt Art, nemlig den første rendyrkede Gjærart, som overhovedet blev indført i Bryggeridriften. Carlsberg Undergjær Nr. 2 betyder derimod flere forskjellige Arter, der efterhaanden bleve prøvede paa Gl. Carlsberg. Resultatet er allerede angivet, Enkelthederne, som høre til den nærmere Begrundelse, ville blive meddelte i en særlig Afhandling om Saccharomyceternes Systematik. Senere have A. Jørgensen, Will, P. Lindner, Holm og Poulsen anstillet lignende Prøver med andre Bryggeri-Undergjærarter og ere komne til det samme Resultat. I Overensstemmelse hermed ere ogsaa de kemiske Undersøgelser af Borgmann og Amthor[1]).

[1]) Denne Literatur findes dels i Jørgensens Bog »Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie«, Berlin 1886, i Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1882, 1883, 1886 og 1888, i Zeitschr. für das ges. Brauwesen, München 1887, Wochenschr. für Brauerei, Berlin 1887, Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie, XXV. Heft IV. 1886, og Zeitschr. f. physiolog. Chemie, XII. 1887.



Forinden jeg afslutter denne Sammenstilling, kan det have sin Interesse at erholde et Overblik over de Karakterer, hvormed de hidtil undersøgte rendyrkede Undergjærarter optræde i Praxis. Jeg støtter mig herved ikke blot til mine egne Erfaringer, men ligeledes til de af Aubry, A. Jørgensen og Will offentliggjorte.

Vi se da, at nogle Arter give, hvad Praktikerne kalde smukke Gjæringer med vel udviklet Skumdække, smuk Krølledannelse og god Klaring, andre derimod ikke. Ogsaa i Henseende til Attenuationen og Bundgjærens Beskaffenhed træde tydelige Differenser frem; dette gjælder ligeledes om det færdige Øls Smag, Lugt, Holdbarhed og Evne til at holde paa Skummet.

Medens nogle frembringe Øl med mild Smag og navnlig ofte med en mildere end det tilsvarende Øl, der blev fremstillet ved Hjælp af uren Gjær, findes der omvendt Arter, som give et Produkt med en stærkere Smag, undertiden frugtsyreagtig eller lidt bitter.

Som bestemte Exempler vil jeg med et Par Ord omtale Carlsberg Undergjær Nr. 1 og en af de mere udprægede Arter, vi i Bryggeriet have kaldt Nr. 2. Forsøgene ere anstillede aldeles under de samme Forhold i Gl. Carlsberg Bryggeri, saa en Sammenligning altsaa kan finde Sted, og det er netop med de af disse to Arter fremstillede Ølsorter, at Borgmann udførte sine ovenfor citerede kemiske Undersøgelser.

Nr. 1 giver et temmelig tyndt Skumdække, lave, uanselige Krøller, stærk Attenuation og langsom samt temmelig slet Klaring, et løst, lidt slimet Gjærbundfald, som for Gjærvaskere kun har temmelig ringe Værdi; ogsaa i Lagerkjælderen gaar Klaringen langsomt for sig.

Nr. 2 derimod giver et vel udviklet Skumdække, smuk Krølledannelse, svag Attenuation, hurtig og fortrinlig Klaring, en fast grødagtig Bundgjær, der er meget søgt af Gjærvaskerne, samt en hurtigere Klaring i Lagerkjælderen. Øllet af begge disse Gjærarter har fin, god Smag, men Nr. 2 Gjærens er fyldigere, dens Øl er mere kulsyrerigt og holder bedre paa Skummet; til Gjengjæld er Øllet af Nr. 1 Gjæren meget mere holdbart. Aftappet paa Flasker, som derefter bleve henstillede ved almindelig Stuevarme i et mørkt Skab, var der endnu efter 3 Ugers Forløb intet kjendeligt Gjærbundfald dannet, hvorimod Øllet af Nr. 2, behandlet paa samme Maade, allerede efter en halv Snes Dage var udrikkeligt paa Grund af den rigelige Gjærdannelse.

Gjæringerne af Carlsberg Undergjær Nr. 1 have altid opvakt Forbauselse hos de Bryggere, der besøgte vore Gjæringskjældere; det er nemlig en Gjær, som mangler alle de ydre Kjendetegn, som

Praktikeren fordrer af en god Bryggerigjær, og dog giver den et godt og navnlig et usædvanlig holdbart Produkt. Denne sidste Egenskab har især en stor Betydning, naar Øllet, som det er Tilfældet her i Landet, for største Delen sælges paa Flasker.

At Attenuationen for sig alene ikke betinger denne Forskjel i Holdbarheden mellem de to nævnte Gjærarter følger deraf, at Øl af Nr. 2 Gjæren, der ved lang Lagring var blevet ligesaa stærkt forgjæret som det tilsvarende Øl af Nr. 1 Gjæren, dog bestandig stod langt under dette i den nævnte Retning. I en anden Afhandling vil der blive givet nærmere Oplysning om disse Forhold, hvilke bero paa fysiologiske Ejendommeligheder hos de to Gjærarter.

Paa den beskrevne Maade optraadte disse bestandig i alle de Bryggerier, hvor de bleve prøvede; de fremhævede Hovedkarakterer vare i alle Tilfælde de samme.

Ved Udtrykket Holdbarhed tænkes her kun paa Gjærbundfaldets Dannelse og ikke paa Bakteriesygdomme. Betragte vi Sagen nøjere, finde vi, at Gjærbundfaldet dels kan skyldes den Kulturart, der fra Begyndelsen har været i Overtal, og som væsentlig har udført Gjæringsarbejdet, og dels vilde Gjærarter. Vi se da bort fra de Tilfælde, i hvilke flere Kulturarter have været virksomme. En Gjærart, som giver holdbart Øl, maa være en saadan, som ikke blot selv i forholdsvis ringe Grad formerer sig i det færdig lagrede Øl, men som tillige under Gjæringen formaar at holde Konkurrenterne tilbage.

Den nærmeste Aarsag til, at visse Arter udmærke sig i den sidste Retning, maa i nogle Tilfælde søges deri, at de paa en kraftigere Maade end Konkurrenterne formaa at tilegne sig Næringsbetingelserne og da navnlig Ilten, i andre derimod fornemmelig deri, at de under deres Formering udsondre Stoffer, der virke som Gifte.

Naar sammenlignende Prøver skulle anstilles over Holdbarheden i den Forstand, hvori den ovenfor er tagen, maa vedkommende Ølsorter være klare og kun indeholde en ringe Indblanding af Gjærceller; strængt taget, kræves der egentlig, at disses Antal skal være det samme i alle Prøverne. Der er, som berørt, Undergjærarter, som give et meget holdbart Øl, men med meget langsom Klaring i Lagerkjælderen, og omvendt give flere af de Arter, hvis Øl netop mangler Holdbarhed, en hurtig Klaring i Lagerkjælderen. Paa et Stadium, hvor de sidstnævnte Arters Øl er blankt, kan Øllet af de førstnævnte endnu indeholde en Uendelighed af Gjærceller og alene paa Grund deraf være mindre holdbart end det andet, skjøndt det efter fuldendt Lagring langt vil overgaa dette.

Saavel de theoretiske Undersøgelser i Laboratoriet som de rent praktiske i Driften selv have altsaa lært os, at der gives forskjellige Saccharomyces-Arter og ikke blot de saakaldte vilde Gjærarter, men tillige godt karakteriserede Over- og Undergjærarter, som anvendes i Bryggerierne. Udsatte for forskjellige ydre Paavirkninger kunne de variere i høj Grad, men naar de derpaa i længere Tid dyrkes under de oprindelige Forhold, vende de tilbage til den tidligere Tilstand. Saa længe de bleve dyrkede under Bryggeriforhold, viste de kun smaa Svingninger. Som en Følge heraf baade kunne og maa vi i Praxis regne med dem som med konstante Arter og derefter indrette vor Methode.

IV.

Om den praktiske Undersøgelse af Øllet i Lagerfadene med Hensyn til dets Holdbarhed.

Lærebøgerne over Ølfabrikationen indeholde enten slet Intet om dette Spørgsmaal eller kun nogle faa Antydninger. Det synes ogsaa ved første Øjekast at være saa simpelt, at det ikke trænger til en nærmere Behandling, men tænke vi nøjere efter, erfare vi dog snart, at det har flere Sider, og at vi i Virkeligheden bevæge os paa en usikker Bund.

De Undersøgelser, som jeg i det Følgende skal meddele, bleve udførte for omtrent fem Aar siden, altsaa paa en Tid, da mine rendyrkede Gjærarter endnu ikke vare gaaede ind i Bryggeridriften; Øllet, hvorom Talen er, blev i alle Tilfælde fremstillet ved Hjælp af uren Gjær, og det var undergjæret. En stor Del af Materialet blev mig godhedsfuldt overladt til Bearbejdelse af Hr. Bryggeridirektør, Kapt. Kühle, og i Følge min Opfordring var Hr. Laboratorieforstander Grønlund saa venlig at foretage nogle Undersøgelser paa Ny Carlsberg paa samme Maade, som de, jeg selv anstillede paa Gl. Carlsberg, over den Indflydelse, det har, om vedkommende Ølprøve luftes eller ikke, og om den udsættes for almindelig Stuevarme eller for en Temperatur at 25—27° C. Begge disse Herrer bringes herved min bedste Tak. Det var fra første Stund min Agt at meddele de erholdte Resultater i nærværende nye Række af mine Undersøgelser, hvortil de jo ogsaa i Følge deres Natur høre, men da disses Offenliggjørelse, som jeg bemærkede i Indledningen, paa Grund af andre Arbejder maatte opsættes indtil nu, blev dette ligeledes Tilfældet med nærværende Studier. Den Nytte, de maatte kunne stifte, vil forøvrigt være den samme nu som da de bleve samlede, thi Spørgsmaalet venter, som jeg foran bemærkede, endnu bestandig paa at blive behandlet.

Naar Bryggeren tager Prøver af Øllet i Lagerkjælderen, er det hans Hensigt derved ikke blot at erfare, hvorledes det er i Øjeblikket, men tillige, hvorledes det vil blive efter en vis Henstand. Han tager denne Undersøgelse rent praktisk og betjener sig derved ikke af nogetsomhelst videnskabeligt Hjælpemiddel. Det er Øllets Smag, Lugt, Farve og Klarhed, der ere Gjenstand for hans Undersøgelser. Prøverne aftappes i vel rensede og godt proppede Flasker af klart, ufarvet Glas, og for at erfare, hvor længe de kunne holde sig, stilles de ind i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme. Der bliver derpaa holdt Regnskab med, om Vædsken vedbliver at være klar uden Affarvning eller ej, og hvorlænge det varer, førend et kjendeligt Bundfald har dannet sig, endvidere hvorledes dette er, om det ved Rystning let fordeles i Vædsken, saa at den bliver mudret, uigjennemsigtig, eller om det kun løsner sig i Brokker, som atter temmelig hurtig synke til Bunds uden i nogen kjendelig Grad at forstyrre Klarheden. Disse Forandringer skyldes i alle Tilfælde fortrinsvis Mikroorganismers Indgriben. Bliver Vædsken uden at rystes efterhaanden uklar og affarvet, da have vi en Bakteriesygdom. En saadan hører dog til de sjeldne Tilfælde og forekommer i gode Undergjæringsbryggerier nu saa at sige aldrig. Derimod fostrer selv det bedste Øl efter en vis Tids Henstand et Gjærbundfald, dels bestaaende af Kultur-Gjær, dels af vilde Gjærarter og ofte af saadanne, der fremkalde Sygdomme, Gjærtykhed og uheldige Smagsforandringer. Det udvikles efter en forskjellig Tids Forløb, eftersom man har arbejdet med den ene eller anden Kulturart, og eftersom den er mere eller mindre uren af vild Gjær. Naar vi i det Følgende tale om Øllets Holdbarhed, tænke vi derved kun paa Gjærbundfaldet. Om Holdbarhedsspørgsmaalet se ogsaa min foregaaende Afhandling, p. 315.

Det Første, vi maa lægge Mærke til, hvis vi ville gaa sikkert frem, er, at de smaa Portioner Øl, som vi tage op fra Lagerkjælderen til Undersøgelse, ere Gjennemsnitsprøver, thi ellers kunne de naturligvis ikke give os Oplysning om Tilstanden af de store Masser, hvoraf de bleve tagne. Her møde vi imidlertid strax Vanskeligheder. Selv om en Afdeling af Lagerkjælderen er anlagt paa samme Tid og saaledes, at alle Fadene efterhaanden ere blevne fyldte med det selvsamme Øl, vil disses Indhold dog blive noget forskjelligt; det er nemlig ikke muligt hver Gang at give dem nøjagtig den samme Portion, undertiden faar et Fad en lidt for stor, undertiden en lidt for lille, men da Gjærkarrenes Indhold

i den lange Tid, der medgaar til Fyldningen af Fadene, efterhaanden kan være temmelig forskjellig, vil dette naturligvis ogsaa under de nævnte Omstændigheder kunne medføre kjendelige Differenser for Lagerfadenes Vedkommende. Følgen heraf er altsaa, at man maa tage Prøver fra ethvert Fad for sig. Spørgsmaalet bliver da, om det er muligt, saaledes som Forholdene i Driften nu en Gang ere, at erholde Gjennemsnitsprøver, og paa hvilken Maade vi bedst kunne erholde disse; at enhver lille Portion, som tages ud af det store Fad, ikke kan give en nøjagtig Oplysning om det hele Indhold, er let at forudse.

Den Fremgangsmaade, der blev anvendt, var følgende: Ved Hjælp af en Svikkelpind eller Svikkelhane blev der i Lagerkjælderen fyldt en Del af de foran beskrevne Flasker (hver rummende c. 350 Kub.-Centim.), som strax derefter bleve godt proppede. Saavel Flaskerne som Propperne vare i Forvejen steriliserede, og Prøverne toges med Forsigtighed. Saasnart de vare bragte op i Laboratoriet, bleve de stillede ind i et mørkt Skab, hvor de vare udsatte for almindelig Stuevarme, om Dagen i Reglen 16—18, om Natten ofte kun 10° C.

I. Forsøg: Fra 12 Fade med 7 Maaneder lagret Exportøl toges 72 saadanne Prøver, nemlig 6 fra hvert Fad, 2 fra dets nedre, 2 fra dets mellemste og 2 fra dets øvre Lag. Efter 14 Døgns Forløb fandtes stærkt udviklet Bundfald

i 20	Flasker	fra de	øvre Lag,
i 7	—	- -	mellemste Lag,
i 3	—	- -	nedre Lag.

De øvrige 42 indeholdt endnu kun et ringe Bundfald.

II. Forsøg: Fra 5 Fade med 9 Maaneder lagret Exportøl toges 30 Prøver paa samme Maade som ovenfor. Resultatet blev forskjelligt fra det foregaaende; thi kun for 2 Fades Vedkommende udvikledes Gjærbundfald hurtigere i Prøverne fra de øvre end i Prøverne fra de nedre. 2 Fade viste det modsatte Forhold, og i det femte Fad forholdt de tre Lag sig ens i den nævnte Retning.

III. Forsøg: Fra 10 Fade med 4 Maaneder lagret Lagerøl toges 60 Prøver; Behandlingen var den samme som i de to foregaaende Forsøg. Efter 16 Døgn fandtes kun i 9 Flasker stærkt Gjærbundfald, og alle disse indeholdt Prøver fra Fadenes øvre Lag.

Kapt. Kühle gjorde ifølge mundtlig Meddelelse en lignende Iagttagelse med Lagerøl, der var lagret 6 Maaneder.

IV. Forsøg: Fra 5 Fade 3 Maaneder lagret Lagerøl toges 30 Prøver, som ovenfor beskrevet. Resultatet blev, at Prøverne fra de 3 Lag forholdt sig væsentlig ens; for saa vidt en Forskjel overhovedet kunde iagttages, viste den sig deri, at Gjærbundfaldet dannedes lidt tidligere i Prøverne fra de nedre end i Prøverne fra de øvre Lag.

Hovedresultatet blev altsaa, at Lagerfadenes øvre Lag i de fleste Tilfælde tidligere udviklede Gjærbundfald end de nedre, det Modsatte indtraadte sjeldnere. Prøver fra et enkelt Lag i Fadet give følgelig i Reglen ingen paalidelig Oplysning. For at undgaa de Tilfældigheder, der kunne indtræde, maa man ogsaa helst tage et større Antal.

Da Øllet, som bemærket, var færdigt lagret, Lagerøllet endog meget gammelt, kunde man vente, at de øvre Lag netop maatte være fri for Gjærceller, og at de nedre i hvert Fald indeholdt et større Antal deraf end de øvre. Det er muligt, at vi, hvis vi havde foretaget en Tælning, da ogsaa vilde have fundet dette, men vi maa her ikke glemme, at det ikke alene er Gjærcellernes Antal, men ogsaa deres Art og Tilstand, hvorpaa det kommer an. Det vilde være let at opstille Formodninger om, hvori Forklaringen kunde søges, men da jeg ikke har experimentelle Undersøgelser at støtte mig til, finder jeg det rigtigst kun at meddele Kjendsgjerningerne.

Dette var Spørgsmaalet om Gjennemsnitsprøven. Vi lære navnlig heraf, at Bryggeren i Reglen ikke vil erholde en saadan, naar han efter den sædvanlige Fremgangsmaade aftapper en eller to Halvflasker fra vedkommende Fads nedre Parti.

Vor næste Opgave er nu at betragte den Fremgangsmaade, vi skulle anvende for at komme til Kundskab om, hvilken Holdbarhed Øllet er i Besiddelse af under de Vilkaar, hvorfor det bliver udsat efter at have forladt Lagerfadene. Vi gaa herved ud fra, at det bliver godt behandlet saavel i de smaa Foustager som i Flaskerne. Naar Talen er om almindeligt Lagerøl, vil det, i det mindste som Forholdene ere her i Landet, i Reglen ikke blive udsat for en højere Temperatur end almindelig Stuevarme; noget anderledes stiller det sig derimod med Exportøllet, af hvilket det tilmed ogsaa fordres, at det skal holde sig i en meget længere Tid. Bryggeren plejer derfor ogsaa at lade Prøverne af Lagerøllet staa ved almindelig Stuevarme, medens han derimod anbringer Prøverne af Exportøllet tillige ved en højere Temperatur, f. Ex. 25° C.

Idet Øllet fra Lagerfadene aftappes paa mindre Foustager og derfra atter paa Flasker, bliver det temmelig stærkt luftet, og en

af de for Gjærcellernes Formering virksomme Faktorer træder altsaa til. Hvor man foretager Aftapningen under Kulsyretryk, vil dette naturligvis forhindres, men denne Fremgangsmaade anvendes de færreste Steder.

Prøverne i vore Flasker ere i Følge det Foregaaende mindre luftede end det Øl, der gaar ud i Handelen; at dette faar Indflydelse med Hensyn til Holdbarheden, vise følgende Forsøg:

Fra det nedre Parti i vedkommende Lagerfad bleve paa samme Maade som foran beskreven 4 af de omtalte Flasker fyldte; 2 af dem bleve derpaa strax proppede, 2 derimod først omheldte i tomme Flasker af samme Slags, alle bleve derefter stillede ind i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme. Det viste sig da, at det saaledes luftede Øl i de allerfleste Tilfælde tidligere udviklede Gjærbundfald end det tilsvarende ikke luftede, kun sjeldnere dannedes Bundfaldet i de to Rækker paa samme Tid, og ingensinde kom det hurtigere frem i de ikke luftede end i de luftede. Forskjellen i Tid kunde beløbe sig til flere Døgn. Disse Undersøgelser bleve anstillede med Export- og Lagerøl saavel fra Gamle som fra Ny Carlsberg, og der blev hertil taget Prøver af 89 Fade. Lagerøllet var 3 Maaneder, Exportøllet 7—12 Maaneder lagret. Heraf følger blandt Andet, at Øllet vil bevare en større Holdbarhed, naar man under Aftapningen undgaar at lufte det.

I en lignende Række Undersøgelser blev det Spørgsmaal stillet med Hensyn til de ikke luftede Prøver, om Gjærbundfaldet dannedes hurtigst ved sædvanlig Stuevarme eller ved 25—27° C. Det viste sig da, at det første var Tilfældet. Efter en Maaneds Henstand ved den sidstnævnte Temperatur vare de fleste Prøver af Lagerøllet endnu uden Spor af Gjærtykhed, hvorimod alle de tilsvarende, der stode ved almindelig Stuevarme, vare tykke efter 15—23 Døgn. I de undersøgte Tilfælde traadte den angivne Differens overhovedet stærkest frem hos denne Ølsort og svagere hos Exportøllet. Det erindres, at der her bestandig kun er Tale om Gjærbundfaldets Dannelse; Bakterier ville derimod vistnok i Almindelighed hurtigere udvikle sig ved den højere Temperatur.

Endelig blev der stillet nogle luftede og ikke luftede Prøver ind i Thermostaten ved 25—27° C.; ogsaa i dette Tilfælde bleve hine tidligere gjærtykke end disse.

Skjøndt de saaledes meddelte Resultater ere grundede paa et temmelig betydeligt Antal Analyser, tør vi dog ikke uden videre tilskrive dem almindelig Gyldighed; vi vide nemlig ikke Andet om dem, end at de svare til de beskrevne Forhold; for at kunne gaa videre, kræves der lignende Undersøgelser fra flere forskjellige

Bryggerier. Det vil glæde mig, om Andre efterhaanden vilde give Bidrag i denne Retning; jeg selv maa nøjes med at have gjort Begyndelsen.

En saadan Fortsættelse maatte da ogsaa omfatte Øl fra Fade med Spaaner og ikke blot det færdigt lagrede, men tillige Øllet paa Eftergjæringens forskjellige Stadier. I sidstnævnte Tilfælde vilde Opgaven være om muligt at udfinde, hvilke Regler der kunne opstilles med Hensyn til Øllets Bedømmelse, naar denne skal finde Sted en Tid, forinden det forlader Lagerkjælderen. Mindst komplicerede ville disse Spørgsmaal være i de Bryggerier, hvor Gjærens Rendyrkning er fuldstændig gjennemført, og navnlig, hvor man kun arbejder med een nøje kjendt Gjærart.

Nogle Bemærkninger om den jodometriske Syretitrering.

Af

J. Kjeldahl.

Den af mig til Ammoniakbestemmelse anbefalede jodometriske Syretitrering blev mange Steder optaget igjen og rosende omtalt paa Grund af Endereaktionens uovertræffelige Skarphed. Saavidt mig bekjendt, er den imidlertid de fleste Steder atter opgivet. Dette har dels været foranlediget ved Titrervædskens ringe Holdbarhed, men endnu mere ved visse Uregelmæssigheder i Resultaterne, der ere begrundede i Forhold, som ved Udgivelsen af min første Meddelelse vare mig ubekjendte. Ved passende Afstemning og Opbevaring af Hyposulfitopløsningen kan imidlertid begge Dele undgaas, og jeg skal derfor i denne lille Meddelelse kortelig omtale de Forholdsregler, som herved blive at iagttage.

Her anvendes nu altid en Hyposulfitopløsning af saadan Styrke, at 1 Kub. Centimeter svarer til 1 Milligram Kvælstof (17,7 Grm. rent Natriumhyposulfit pr. Litre).[1]) Denne Opløsning holder sig uforandret i meget lang Tid, naar den fremstilles af et rent, troubleret Salt, og man drager Omsorg for at beskytte den mod Lysets og Kulsyrens Indvirkning. Den bør derfor opbevares i en lidt over Byretten anbragt sort Flaske (udvendig malet med Asfaltlak), hvori Luften trænger ind gjennem et Rør med Natronkalk i Proppen, medens Opløsningen flyder til Byretten gjennem et, i en Tubus forneden anbragt Glasrør med Hane. Man erindre blot

[1]) I min tidligere Meddelelse har jeg betegnet den Hyposulfitopløsning som $^{1}/_{20}$ normal, der stemmede med $^{1}/_{20}$ normal Svovlsyre. En Opløsning af ovennævnte Styrke, der altsaa skulde have været betegnet som $^{1}/_{14}$ normal, er pag. 21. L. 21 f. o. ved en Fejltagelse anført som $^{7}/_{200}$ normal.

ogsaa at anvende udkogt Vand til Fremstilling af Opløsningen; Undladelse af denne Forholdsregel har ofte fremkaldt den mest forskjellige Holdbarhed hos tilsyneladende ens behandlede Opløsninger.

Svovlsyre af tilsvarende Styrke, og end mere den stærkere fortyndede, blev her i Laboratoriet angrebet af en Mucor (vistnok en ikke hidtil beskreven Art, hvis Undersøgelse blev paabegyndt af Dr. Fr. Elfving, der da arbejdede som Gjæst i Laboratoriets fysiologiske Afdeling). Syrens Titre blev, selv ved temmelig stærk Vegetation, mærkeligt nok, næppe kjendeligt formindsket, men maa ved fortsat Udvikling formentlig dog lide en Forandring, hvorfor det er at foretrække at benytte en Syre af omtrent den dobbelte Styrke (ca. $^1/_7$ normal), der ikke angribes af nogen Organisme; der tages da 15 Kub. Centimeter heraf i Forlaget istedetfor 30.

Jeg skal nu omtale et Forhold, der ved første Betragtning skulde synes at gjøre Methoden ganske uanvendelig til nøjagtige Maalinger, men som imidlertid, naar tilbørligt Hensyn tages dertil ved Opløsningens Afstemning, er absolut uden Indflydelse paa Rigtigheden af Resultatet.

Den ved Ligningen

$$KJO_3 + 5\,KJ + 3\,H_2\,SO_4 = 3\,K_2\,SO_4 + 3\,H_2\,O + 3\,J_2 \;.\;.\;.\;.\;.\; (A)$$

udtrykte Reaktion finder i fortyndede Opløsninger ikke strax, som pag. 19 angivet, Sted i sit fulde Omfang, men forløber derimod i to Afsnit, et øjeblikkeligt, indtil de reagerende Molekyler have naat den indbyrdes Afstand, der sætter Grændse for deres gjensidige Paavirkning, og et andet, meget langsomt forløbende, i hvilket de endnu upaavirkede Molekyler under de Stedforandringer, de i Opløsningen bestandig ere underkastede, efterhaanden komme indenfor hverandres Paavirkningssfære. Dette er Hovedaarsagen til den pag. 21 omtalte »Efterblaanen«, medens Kulsyrens Indvirkning her kun spiller en lille Rolle[1]). Den anførte Opfattelse af Fænomenet bekræftes derved, at Varigheden af denne anden Fase kan afkortes

---

[1]) Den jodometriske Methode er fortrinlig skikket til Bestemmelse af den bundne Kulsyre i Vand. 30 Kub. Centimeter Syre + 100 Kub. Centimeter Vand fra Ledningen gav, direkte titreret, et Mindreforbrug af 7,9 Kub. Centimeter $^1/_{14}$ normal Hyposulfitopløsning, efter Udkogning i Platin- eller Porcellainsskaal 8,1 Kub. Centimeter, svarende til 0,289 Grm. $CaCO^3$ pr. Litre. Bortkogningen af Kulsyren har altsaa kun lidet paavirket Resultatet. Ved Udkogning i Kogeflaske faas derimod ganske falske Resultater, idet Vandet optager Alkali fra Glasset.

ved heftig Omrystning og end mere ved Opvarmning til 100° i en vel tillukket Flaske (den kraftigste »molekulare Rystning«). Ved Anvendelse af Reaktionen til Titrering vil man imidlertid blive staaende ved Afslutningen af den første Fase, der er fuldkommen skarp, og det skal da her bevises, at der ikke ved Reaktionens Ufuldstændighed indføres nogen Fejl i Resultatet.

Den Mængde Syre, som ikke strax deltager i Reaktionen, afhænger af den tilstedeværende Vandmængde og voxer med denne, derimod er den, i Overensstemmelse med ovenstaaende, theoretiske Betragtning og med det almindelige Forløb af kemiske Reaktioner, ganske uafhængig af den fra først af tilstedeværende Mængde Syre, noget der ydermere er godtgjort ved mange Forsøg. Lad os t. Ex. antage, at der ved et samlet Vædskevolumen af 100 Kub. Centimeter forbliver 2 Milligram fri Syre tilbage, saa vil der ved 200 Kub. Centimeter maaske blive 3 Milligram tilbage, men dette vil være uafhængigt af, om der oprindelig var 100 eller 5 Milligram fri Syre tilstede. Ved 100 Kub. Centimeter Vædske deltager altsaa henholdsvis 98 og 3, ved 200 Kub. Centimeter Vædske henholdsvis 97 og 2 Milligram Syre i Reaktionen.

Lad nu a betegne de anvendte Kub. Centimeter Syre, α de heri indeholdte Kub. Centimeter Normalsyre, β den ved denne Syremængde, under den anvendte Fortynding, udskilte Jodmængde, udtrykt i Kub. Centimeter Normal-Jodopløsning, samt b de til Titreringen heraf forbrugte Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning — endvidere a′ Kub. Centimeter fri Syre efter Destillationen, og α', β' og b′ de hertil svarende Størrelser. Mindreforbruget af Hyposulfit skal da være lig med det Antal Kub. Centimeter Normalsyre, som er mættet med Ammoniak, altsaa

$$b - b' = \alpha - \alpha'.$$

Da Reaktionen, som sagt, ikke er ganske fuldstændig, og der altsaa ikke udskilles den fulde, med Syremængden ækvivalente Mængde Jod, vil man have

$$\alpha = \beta + k, \;\ldots\ldots\; (1)$$

hvor k er konstant ved samme Fortynding. Ved Titreringen efter Destillationen vil den samme Mængde Syre undlade at deltage i Reaktionen, saa at man har

$$\alpha' = \beta' + k \text{ (den samme Konstant) } \ldots\ldots (2).$$

Ifølge de anvendte Betegnelser har man endvidere

$$\frac{\alpha'}{\alpha} = \frac{a'}{a} \;\ldots\; (3)$$

$$\text{og } \frac{\beta'}{\beta} = \frac{b'}{b} \;\ldots\; (4),$$

det er, de i forskjellige Rumfang Syre og Hyposulfitopløsning tilstedeværende Rumfang Normalsyre og Normalhyposulfitopløsning (= Rumfang af Normaljodopløsning) ere proportionale med hine Rumfang.

Man finder altsaa

$$b - b' = \alpha - \alpha' = \beta - \beta' = \frac{\beta}{b}(b - b'),$$

hvoraf atter faas

$$b = \beta;$$

det er, Hyposulfitopløsningen skal stemme med en normal Jodopløsning. Vilde man stemme den paa en Normalsyre, hvad der ved Anvendelse til Syretitrering skulde synes det Rette, og hvad man vistnok i Almindelighed har gjort, $(b = \alpha)$, vilde man have $b = \beta + k$; Ligningen $b - b' = \alpha - \alpha'$ bliver da ikke tilfredsstillet undtagen for $k = 0$ (ved stærke Normalopløsninger).

I Praxis vil man dog i Almindelighed til Afstemning af Hyposulfitopløsningen benytte en Opløsning af rent svovlsurt Ammon af bekjendt Styrke, f. Ex. en saadan, der indeholder 1 Gm. Am^2SO_4 paa 100 Kub. Centimeter. Den af 10 Kub. Centimeter heraf ved Destillation vundne Ammoniak skal da give et Mindreforbrug af Hyposulfitopløsning paa 21,21 Kub. Centimeter. Denne af Dr. Knublauch i Zeitsch. f. anal. Chemie XXI, pag. 161, til Afstemning af Normalsyre anbefalede Fremgangsmaade er unægtelig særdeles rationel til Fastsættelse af Hyposulfitopløsningens Styrke ved den Anvendelse, som den her skal finde. Det viser sig, at de ved Jod og ved svovlsurt Ammon afstemte Opløsninger ere af nøjagtig samme Styrke.

Hvis man har b = a, vil man finde

$$b' = b\frac{\beta'}{\beta} \text{ (ifølge (4))} = b\frac{\alpha' - k}{\beta} \text{ (ifølge (2))} =$$

$$b\frac{\alpha\frac{a'}{a} - k}{\beta} \text{ (ifølge (3))} = b\frac{(\beta + k)\frac{a'}{a} - k}{\beta} \text{ (ifølge (1))} =$$

$$b\frac{a'}{a} + b\frac{k}{\beta}\cdot\frac{a'}{a} - b\frac{k}{\beta},$$

som for b = a bliver til $b' = a' - \frac{k}{\beta}(a - a')$,

det er, naar et vist Antal Kub. Centimeter Syre og Hyposulfitopløsning stemme med hinanden, vil dette ikke være Tilfældet med andre Rumfang heraf. Afvigelsen vil være proportional med Størrelsen af $a - a'$ og k, det vil sige, den vil være desto større, jo større Forskjellen er mellem de anvendte Rumfang, og jo tyndere

Opløsninger man arbejder med. Naar man derfor vil benytte en Syre til Afstemning af Hyposulfitopløsningen, bør dette altid ske med det samme Rumfang.[1])

Ved Tilsætningen af jodsurt Kali og Jodkalium er følgende at bemærke. Selvfølgelig maa der tilsættes mindst den efter Ligning (A) beregnede Mængde jodsurt Kali, f. Ex. til 30 Kub. Centimeter $^1/_{14}$ normal Svovlsyre 77 Milligram KJO_3, der tages 2 Kub. Centimeter 4 $^0/_0$s Opløsning = 80 Milligram. Man kunde formode, at der ligeledes maatte tilsættes den beregnede Mængde Jodkalium, nemlig 5 Molekyler, eller til 30 Kub. Centimeter $^1/_{14}$ normal Svovlsyre 296 Milligram KJ. Det viste sig imidlertid, at man kunde nøjes med langt mindre Jodkalium, ja ned til et næsten forsvindende Spor, og dog faa et Resultat, der i Hovedsagen (se nedenfor) stemmede med det Rigtige. Forklaringen hertil ligger dog ganske nær, idet der ved Reaktionen

$$2\,Na_2\,S_2\,O_3 + J_2 = Na_2\,S_4\,O_6 + 2\,NaJ$$

jo stadig dannes Jodnatrium, der med det forhaanden værende Jodat danner nyt frit Jod, der atter giver Jodnatrium, o. s. v.

Et Spor af frit Jod vil altsaa være nok til at indlede Reaktionen. Imidlertid forløber denne dog ikke i alle Henseender, heller ikke i kvantitativ, paa samme Maade som, hvor der fra Begyndelsen er tilsat tilstrækkeligt Jodkalium. Det viste sig nemlig, at man ved Anvendelse af meget lidt Jodkalium brugte en kjendelig større Mængde Hyposulfitopløsning til samme Mængde Syre; endvidere, at den vel kjendte »Efterblaanen« indtraadte overordentlig

---

[1]) Ligningen

$$\frac{\alpha}{a}(a - a') = \frac{\beta}{b}(b - b'),$$

der let udledes af det foregaaende, bliver, naar Hyposulfitopløsningen er normal, til

$$\frac{\alpha}{a}(a - a') = b - b'.$$

Er ogsaa Syren normal, faas

$$b - b' = a - a',$$

det vil sige, Forskjellen mellem Rumfang af Syre, der anvendes i to Forsøg, bliver lig Forskjellen mellem de forbrugte Rumfang Hyposulfitopløsning. Man har da $a - b = a' - b' = k$. Er Syren stærkere end normal, vil Differensen i Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning være større end Differensen i Kub. Centimeter Syre, er den svagere end normal, vil det omvendte være Tilfældet. Dette Forhold finder ingen direkte Anvendelse her, men er forøvrigt et fint Middel til at undersøge, om en Syre er normal eller ikke.

hurtigt og stærkt, saa at det blev vanskeligt med Bestemthed at angive Titreringens Afslutning.

Man kan imidlertid ogsaa ganske udelade Jodkaliumtilsætningen, altsaa kun tilsætte jodsurt Kali i den før nævnte Mængde og Stivelsevand. Reaktionen vil da forløbe, som nys beskrevet, kun at de der nævnte Uregelmæssigheder ere end stærkere fremtrædende. At det jodsure Kali skulde indeholde et Spor af Jodid, der kunde indlede Reaktionen, kan ikke antages, da Blandingen af Svovlsyre, Jodat og Stivelsevand er og holder sig fuldkommen ufarvet. Rimeligere synes det, at Jodsyren, naar den er alene tilstede, virker iltende paa Hyposulfitet under Udskilning af Jod, som derefter ligeledes paavirker Hyposulfitet paa sædvanlig Maade, med andre Ord, at Jodsyren virker iltende paa Hyposulfitet baade med sin Ilt og med sit Jod.

Herved forklares tillige det foran omtalte Merforbrug af Hyposulfitopløsning ved Anvendelse af Jodat alene eller i forholdsvis overvejende Mængde. Jodsyren og Jodbrinten, som Svovlsyren frigjør henholdsvis af Jodatet og Jodidet, dekomponere øjeblikkelig hinanden efter Ligning (A); ere derfor Jodat og Jodid tilsatte i det efter denne Ligning beregnede Mængdeforhold, vil Jodsyren ikke kunne udøve nogen særskilt iltende Virkning paa Hyposulfitet, og Forbruget af dette vil være normalt.

Ved at tage nøjagtigt 5 Molekyler Jodkalium, kan der imidlertid endnu fremkomme smaa Svingninger i Resultatet, hvorfor et Overskud af Jodkalium maa anbefales. Ved særdeles stort Overskud heraf paavirkes Resultatet imidlertid kjendeligt i modsat Retning, idet der medgaar mindre end 30 Kub. Centimeter Hyposulfitopløsning til den tilsvarende Mængde Syre; tillige finder Overgangen til ufarvet i saa Fald Sted med en skiden rød Mellemfarve (om denne Virkning af Jodkalium og Jodbrinte jvfr. W. Nägeli, Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe, pag. 55). Man bør derfor ikke, som angivet pag. 20, tage Jodkalium-Krystaller paa Slump, men et bestemt Rumfang af en Jodkaliumopløsning. Fuldkommen paalidelige Resultater faas ved følgende Fremgangsmaade:

Efter endt Destillation heldes destilleret Vand efter til et paa Flasken anbragt Mærke, der angiver 100 Kub. Centimeter, i Henhold til det foran udviklede om Rumfangets Indflydelse. Derefter tilsættes 10 Kub. Centimeter af en 5 %s Jodkaliumopløsning, Stivelsevand og 2 Kub. Centimeter af en 4 %s Opløsning af jodsurt Kali. Stivelsevandet har jeg efter Bryggerikemiker

A. Petersens Raad tilberedt af opløselig Stivelse, der let fremstilles ved at digerere Kartoffelstivelse 1 Uge med fortyndet Saltsyre ved almindelig Temperatur, udvaske ved Dekantation med Vand og tørre mellem Filtrerpapir. Præparatet opløser sig ved Opvarmning med Vand, og Opløsningen holder sig, efter Mætning med Kogsalt, i god Tilstand i ubegrændset Tid.

Et Destillationsapparat til Brug ved Kvælstofbestemmelse.

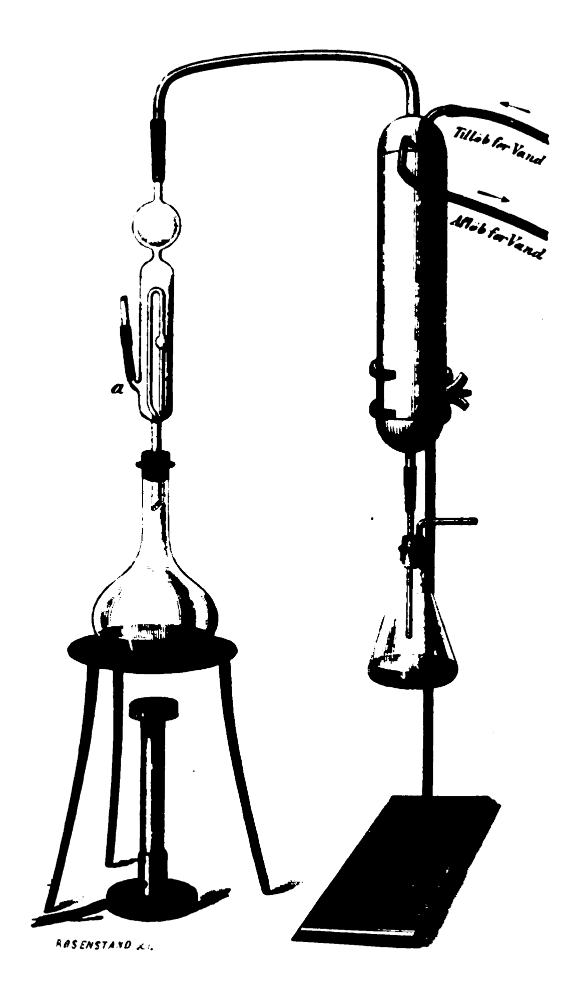
Af

J. Kjeldahl.

Kort efter min Meddelelse om Kvælstofbestemmelse blev jeg opmærksom paa tvende smaa Fejlkilder ved Ammoniak-Destillationen, nemlig Indvirkningen paa Svalerørets Glas af Vanddampene, hvorved lidt Alkali afgives til disse, og den Stænkning, som Brintudviklingen fra Zinken foraarsager, og hvorved smaa Partikler af Destillerkolbens alkaliske Indhold, trods alle mellem denne og Svalerøret indskudte Fangeapparater, kunne føres over i Forlaget. Den hele herved indførte Fejl er dog ikke stor og elimineres næsten ganske, hvor man anvender Kontrolforsøg med Svovlsyre alene (jvfr. pag. 10, L. 8 f. n.). Flere Steder, hvor Methoden indførtes, blev man opmærksom paa de samme Ulemper, og der er i den Anledning bleven beskrevet et ikke ringe Antal Destillationsapparater, hvorved sligt skulde kunne undgaas. Jeg har i længere Tid benyttet hostegnede Apparat, som formentlig byder saa stor en Sikkerhed mod de nævnte Kilder til Fejl, der i det hele kan opnaas.

Efter uden Held at have forsøgt mange forskjellige Opsatser paa Destillerkolben, kom jeg til den Overbevisning, at en Vaskning med Vand er den eneste sikre Maade til at rense Dampene for de omtalte Stænk, idet de ellers føres med af Dampstrømmen paa dens Vej, selv om man gjør denne nok saa kroget eller gjør den opadstigende paa et meget langt Stykke. Jeg anvender derfor nu det i Tegningen viste Vaskeapparat: gjennem Siderøret a, der holdes lukket med en Slange og Glasprop under Destillationen, indbringes før denne et Par Draaber Vand, som Dampene, der gjennem det ombøjede Glasrør, der ender tæt ved Vaskeflaskens Bund, træde ind i denne fra Kolben, tvinges til at passere. Det Vand, der samler sig i Vaskeflasken og holdes i Kog ved Dampene,

tilbageholder intet Ammoniak; efter endt Destillation suges det, saasnart Lampen slukkes, tilbage i Kolben. Vaskeapparatet forbindes ved en kort Gummislange med Svalerøret, der er af Tin, og hvis nedadstigende Gren gaar retliniet gjennem den af fortinnet



Kobber forfærdigede Vandbeholder, der er helt lukket og forsynet med Tilløb og Afløb for Vand efter de sædvanlige Principer. Opsamlingen af Destillatet finder Sted paa den tidligere beskrevne Maade (jvfr. pag. 17).

Om Gluten og dets Plads i Hvedekornet.

Af

W. Johannsen.

Ved »Gluten« forstaas den klæbrige, seje, gulgraa Masse, der vindes ved at ælte Hvedemel med Vand til en stiv Dej og derpaa at udvaske denne Dej under en Vandstraale, der fjerner den største Del af Melets Stivelsekorn og Skaldele foruden opløselige Stoffer. Sædvanlig lader man Dejen henligge en kort Tid efter Æltningen, og, for at undgaa store Tab ved Bortskylning, foretages Udvaskningen bedst over en Sigte. Gluten vindes alene af Hvedens Mel; af alle andre undersøgte Frøsorter faas intet tilsvarende Produkt ved den nævnte Fremgangsmaade.

Som bekjendt, bestaar Gluten — bortset fra en Del Stivelsekorn, Fedt, Brudstykker af Skallen o. s. v., der ikke lader sig fjerne ved Udvaskningen — af Æggehvidestof og Vand, hvilket sidste udgjør fra c. 60—64 % af Massen. Ritthausen[1]) angiver, at han af Gluten har fremstillet fire forskjellige Proteïnstoffer, blandt hvilke Gliadinet (»Plantelimen«) betragtes som særlig karakteristisk for Gluten; af Havre kan dog vindes en ringe Mængde af et Gliadin lignende Stof.

Det er dog fra forskjellig Side udtalt, at de af Ritthausen fundne Proteïnstoffer skulle være Produkter, dannede ved selve Analysen, Spørgsmaal, som dog her ikke kunne behandles nærmere. Men i alt Fald kan det ikke undre, at de hidtil foreliggende Forsøg paa kvantitativ Bestemmelse af »Glutenstofferne« saa godt som intet oplyse angaaende de varierende fysiske Egenskaber (større

---

[1]) »Die Eiweisskörper der Getreidearten ....«, Bonn 1872, o. fl. a. St.

eller mindre Plasticitet, Sprødhed o. a.) hos Gluten af forskjellige Melprøver, friske saa vel som lagrede[1]).

I det følgende holde vi os væsentlig til Glutenets fysiske Egenskaber og skulle her undersøge 1) hvorledes Glutenklumpen fremkommer af Hvedemelet og 2) hvilke af Hvedekornets forskjellige Væv, der her spille en Rolle.

I.

Den Mængde friskt, fugtigt Gluten, der kan udvindes af en given Prøve Mel, varierer stærkt med Fremstillingsmaaden. Men selv om man arbeider paa én og samme Maade, vise Parallelbestemmelser dog ofte betydelige Differenser. Dette kan ikke undre, da det vigtigste Apparat ved Dejens Æltning, eller i hvert Fald ved Udvaskningen, er Haanden. Balland[2]) anfører, at Afvigelserne mellem Bestemmelser, udførte samtidigt, og saa vidt mulig éns, af fire øvede Assistenter, kunde løbe op til 2 % af Melets Vægt, hvilket svarer til 5—7 % af det friske Gluten.

Slige Iagttagelser over forskjellige Personers Resultater have deres Betydning for Værdsættelsen af denne Bestemmelsesmaade som Led i Kvalitetsbedømmelsen af Mel; de vise, hvor lidet nøjagtig Glutenbestemmelsen er, absolut sét.

Naar det imidlertid, som i nærværende Afhandling, drejer sig om relative Værdier, om ydre Faktorers Indflydelse paa normale, fejlfrie Melprøver, da ere de nævnte individuelle Afvigelser uvæsentlige; her er kun Spørgsmaal om, om én og samme Arbejders Resultater stemme overens. Efter nogen Tids Øvelse bemærkede jeg snart, at mine Parallelbestemmelser ofte afvege betydelig fra hverandre, naar de bleve udførte paa forskjellige Dage; paa én og samme Dag fik jeg derimod sædvanligvis god Overensstemmelse, især naar Udvaskningerne foretoges i hurtig Rækkefølge. Af 40 Gram Mel vandtes saaledes én Dag 10,2 Gram friskt Gluten, den følgende Dag 10,75 Gram. Paa én og samme Dag vandtes derimod 10,1—10,3 Gram; af 25 Gram (andet) Mel 7,9—8,0 Gram, 7,6—7,8 og saa fremdeles. Forsøgsrækkerne udførtes derfor altid paa samme Dag, naar da ikke netop Dejens Henstand var nødvendig. Da Gluten-

---

[1]) Sml. Gottlieb, Hvedeundersøgelser; Tidsskrift f. Landøkonomi, 1885, S. 364. De i Tab. VII., S. 391, sammenstillede Resultater vise tilstrækkelig Methodernes ringe Værdi i saa Henseende. Nærmere om denne Tabels Indhold, sml. denne Afhdl. S. 335.

[2]) Journal de pharm. et de chimie, 5 série, T. 8. 1883, p. 358.

klumpen under fortsat Vaskning stadig aftager i Vægt, kan denne naturligvis ikke blive konstant, men man maa nøjes med at iagttage det afløbende Vaskevand. Naar dette næsten synes klart, kan Operationen ophøre — Udvaskning i en bestemt Tid, f. Ex. 5—15 Minuter, alt efter Dejmængden, synes ikke at forøge Nøjagtigheden —, og det gjælder da om at faa den vundne Klump »haandtør«. Man ælter i den Hensigt Klumpen afvexlende i venstre og højre Haand, idet man samtidigt aftørrer den frie Haand i et Klæde. Efter faa Minutters Forløb afgiver Glutenet ikke mere Vand og kan da vejes.

At de Afvigelser, som skyldes forskjellig Fremgangsmaade ved Glutentilberedningen, ikke — i alt Fald langtfra alene — ere begrundede i forskjellig Vandholdighed eller forskjelligt Indhold af fremmede Stoffer (Stivelse, Skaldele o. s. v.), fremgaar af Tørstof- og Kvælstofbestemmelserne, af hvilke jeg skal anføre nogle som Exempler. Tørstofmængden bestemtes ved Tørring til konstant Vægt, ved c. 110°, Kvælstofmængden efter Kjeldahl.

Af en Melprøve fra »de forenede Dampmøller«[1]) gave Portioner à 40 Gram, æltede med 20 Gram Vand og udvaskede over Florsigte:

	friskt Gluten; i Gram.	% Vand i Glutenet.	Tørstof; i Gram.
umiddelbart efter Æltning	9,8	60,7	3,71
efter 10 Minuters Henstand	10,1	61,4	3,91
efter 60 — —	10,75	62,6	4,02

Det friske Gluten er herefter vandrigere, naar Dejen har henligget nogen Tid, end naar den strax udvaskes, men dette betinger ikke alene det efter Henstand vundne større Udbytte af Gluten, hvad der ses af den sidste Kolumne. Dette Forhold, som iøvrigt Benard og Girardin have paavist[2]), illustreres ogsaa af de nu følgende Tal, af hvilke det tillige sés, at Tilvæxten virkelig skyldes en Forøgelse af den »kvælstofholdige Substans«' Mængde.

Samme Melprøve, à 40 Gram med 30 Gram Vand til Æltning, gav:

	friskt Gluten; i Gram.	% Vand i Glutenet.	Tørstof; i Gram.	% Kvælstof i Tørsubst.	Kvælstofmængde; i Milligr.
udvasket strax	8	61,6	3,07	13,13	403
— efter 60 Minuter	10,6	62,7	3,95	13,39	530

[1]) Hr. Direktør, cand. polyt. Bang, der med stor Liberalitet har overladt mig Forsøgsmateriale og meddelt mig alle ønskede Oplysninger, Melfabrikationen vedrørende, maa jeg her bringe min varmeste Tak.

[2]) Journal de pharm. et de chimie, 5 série, T. 4, 1881. p. 127.

Samme Mel, à 40 Gram med 40 Gram Vand til Æltning, gav:

	friskt Gluten; i Gram.	% Vand i Glutenet.	Tørstof; i Gram.	% Kvælstof i Tørsubst.	Kvælstofmængde; i Milligr.
udvasket strax	3	61,3	1,16	13,34	155
— efter 60 Min.	4,9	63,3	1,80	13,26	239.

Af samme Mel tilberedtes af 40 Gram en Dej ved 40° C. Efter ½ Times Henstand udvaskedes Halvdelen med Vand af c. 20°, den anden Halvdel med Vand af 40°. Der vandtes:

	friskt Gluten; i Gram.	% Vand i Glutenet.	Tørstof; i Gram.	% Kvælstof i Tørsubst.	Kvælstofmængde; i Milligr.
udvasket ved 20°	5,7	63,4	2,09	13,36	279
— ved 40°	5,5	63,5	2,01	13,27	267.

Dette sidste Forsøgs Betydning vil senere blive omtalt nærmere; paa dette Sted skal det, sammenholdt med det andet meddelte, illustrere, at Tørstoffet i Gluten af en given Melprøve og fremstillet ved saadan Variering af Methoden som den, hvorved dette Afsnits Resultater ere vundne, kan antages at have saa nogenlunde konstant Sammensætning. Helt bortset fra de vundne Glutenklumpers fuldkomne Overensstemmelse i Plasticitet, fremgaar dette af de kun smaa og ganske uregelmæssige Svingninger i det procentiske Indhold af Kvælstof, som er anført i de ovenstaaende Exempler, hvor Middeltallet af alle Bestemmelserne er 13,29 %.[1]) Vandholdigheden svinger derimod tydeligt paa en lovmæssig Maade. Jo mere Vand der anvendes til Dejen, og navnlig jo længere denne henligger før Udvaskningen, desto vandrigere bliver Glutenet; Tilberedning ved en højere Temperatur har samme Virkning. Dette fremgaar, i alt Fald tildels, allerede af Benard & Girardin's ovennævnte Undersøgelser[2]) og stemmer ganske med Forholdene ved organiserede Legemer, f. Ex. Frøs, Udbulning i Almindelighed.

---

[1]) Gluten af forskjellige Melprøver varierer ofte betydeligt m. H. til Kvælstofindholdet. Gottlieb har (p. d. anf. Sted, Tab. VII) af 8 Prøver, som henholdsvis højeste og laveste Værdi 14,27 % og 13,47 %. Gluten af samme Mel, før og efter Lagring, opviser i to Tilfælde store Svingninger, saaledes f. Ex. Lykkesgaard Hvede endog fra 13,47 — 13,96. Idet disse Svingninger i det hele ikke vise nogen Lovmæssighed, tjene de som yderligere Illustration paa de »absolute« Glutenbestemmelsers ringe Værd som Bevismateriale.

[2]) Om forskjellige Stoffers Indflydelse paa Vandholdigheden sml. Ballands Angivelser. Journ. de pharm et chim. 5 série, T. 8. 1883, p. 438.

Disse Spørgsmaal skulle dog ikke her afhandles; Hensigten med det anførte er kun at vise, at de i det følgende anførte Glutenbestemmelser, der næsten altid ere Gjennemsnit af to parallele Forsøg, virkelig kunne bevise det, de skulle. Den Omstændighed, at Resultaterne stadig gaa i samme Retning, turde maaske være en lige saa god Dokumentation.

Hvorledes Bestemmelserne af det friske Gluten ere udførte i de enkelte Forsøgsrækker, vil fremgaa af det følgende; naar intet er sagt, er der anvendt 25 Gram Mel til hver Analyse. Med denne Melmængde har jeg faaet de bedste Overensstemmelser; ved større Mængder, navnlig udover 40—50 Gram, kan Haanden ikke magte Dejklumpen, der da bliver uensartet behandlet og ikke saa godt udvasket.

Æltningen er stedse foretagen i en Porcelænmorter, 2—5 Minuter, alt efter Vandmængden, hvorpaa Dejen, naar den skulde hvile, er bleven anbragt i en lille Porcelænskaal, dækket med en Glasplade. Udvaskningen foretoges ved Hjælp af en fin Straale Ledningsvand, der mod Slutningen af Operationen forstærkedes, over en Sigte, dels en almindelig Haarsigte, dels en Sigte af fineste Flor. Udvaskningen omtaltes nærmere i Begyndelsen af dette Afsnit; her skal kun tilføjes, at Vejningerne ere foretagne paa en almindelig, god Standvægt, da Præcisionsvejning hurtig viste sig uden Nytte.

Glutenet er kjendt siden Midten af forrige Aarhundrede, Italieneren Beccari angives af Ritthausen som dets første Fremstiller. At Gluten findes færdigt dannet i Hveden, er den ældste og almindeligste Opfattelse. Raspail's Anskuelser[1]), at Glutenklumpen opstaar af sammenfiltrede Cellehinder, samt at Kvælstofindholdet skyldes en Absorption af Atmosfærens Kvælstof, synes ikke at have været almindeligt antagne. De bleve fjernede af Payen[2]) ved hans Undersøgelser over Planternes Cellevægge. Disse meget omfattende, grundlæggende Arbejder, hvis Resultater bl. a. førte til den først i nyeste Tid atter omtvistede Lære, at Cellevæggenes »væsentlige« Bestanddel er rent Cellulose, viste, at Glutenet ikke dannes af Cellehinderne, men især bestaar af

---

[1]) Sml. De Candolle: Physiol. végétale. T. I., 1832, p. 327. Originalen i Raspails Annales des sciences d'observation, 3die Bd. (?), har ikke været mig tilgjængelig.

[2]) Mémoires présentées par divers savants à l'académie des sciences, T. 9. 1846. (»Mémoires sur les développements des végétaux . .«, 3me mémoire) p. 11.

Æggehvidestof. Payen nævner endog fire Proteïnstoffer, hvis Identitet med Ritthausens ikke her skal diskuteres. Payen angiver, at Glutenet findes aflejret mellem Stivelsekornene i Hveden; han betragter Celleslimen i de Stivelse førende Frøhvideceller ligefrem som Gluten.

Senere har Peligot[1]) antaget, at Fedtstof var nødvendigt for at Gluten kunde fremkomme ved Melets Behandling med Vand o. s. v. Peligot bestrider ingenlunde Glutenets Proteïn-Natur; han mener kun, at det er Hvedemelets Fedt, som muliggjør Glutendannelsen, d. e. Proteïnstofpartiklernes Sammenklæbning til én Masse, og fremdeles, at Melets Fedtmængde (c. 1%) just er afpasset i det gunstigste Forhold. Til Støtte for disse Antagelser anføres kun ét Forsøg, i hvilket Mel, udtrukket med Æther, ikke gav Gluten, og endvidere, at Mel, tilsat c. 4% Hvedefedt (Ætherudtræk af samme Melsort), kun ved meget forsigtig Udvaskning gav næsten samme Glutenmængde som normalt Mel. Fedtstofferne tilskrives en stor Betydning ogsaa under Brødtilberedningen; den Brunfarvning og større eller mindre Klæghed, som karakterisere Brød af klidholdigt Mel, tilskriver saaledes Peligot Klidens betydelige Fedtrigdom (3—5%), medens vi nu vide, at kemiske Fermenter og Organismer her spille en Rolle.

Peligots Angivelser om Fedtets Betydning synes dog ikke at have været almindeligt accepterede. Det maa vel ogsaa bero paa en eller anden Biomstændighed ved Forsøget, at hans fedtfrie Mel ikke gav Gluten. Jeg har gjentagne Gange udtrukket Hvedemel med ren Æther ved almindelig Temperatur; efter fuldstændig Fordampning af den i Melet tilbageholdte Æther — Melet laa flere Timer, ofte omrørt, i flade Papirkapsler — gav Melet lige saa meget Gluten som den oprindelige Prøve. Glutenet var kun ikke gulgraat, men hvidgraat, da Ætheren foruden Fedt o. l. fjerner det i Vand uopløselige Farvestof, som giver Melet sit smukke Skjær, og som gjenfindes i normalt Gluten. Peligot hævder i sin Lærebog i agrikulturkemisk Analyse[2]) endnu Rigtigheden af sit Forsøg; men bemærker dog, at med Antagelsen af et »Glutenferment« kan det Fedt opløsende Middels uheldige Indflydelse ogsaa bero paa Evne til at koagulere Fermentet.

---

[1]) Peligot. Sur la composition du blé. Annales de chim. et de phys. 3. série, T. 29. 1850, p. 5—34.

[2]) Peligot. Traité de chimie analytique appliquée à l'agriculture. Paris 1883. p. 367.

Antagelsen af, at et sligt Ferment skal spille en Rolle ved Glutenets Fremstilling, har i de senere Aar vundet Indgang flere Steder. Glutenet skal herefter ikke være tilstede som saadant i Kornet eller i det tørre Mel, men først opstaa, naar Melet befugtes, ved Hjælp af et Ferment, der alene skal findes i Hveden, og som nærmest skal ligne Fibrinfermentet, der omdanner Blodets og Lymfens Fibrinogen til Fibrin. Efter Weyl[1]) skal saaledes Kornsorternes Proteïnstoffer hovedsagelig eller udelukkende være tilstede som Globuliner (»Plantemyosin«), en Antagelse, som dog er mere theoretisk-opstillet end bevist ved Forfatterens Forsøg, af hvilke man vel i det højeste kan slutte, at noget Globulin findes. Disse Globuliner skulle nu efter Bischoff & Weyl[2]) være Modersubstans for Glutenet. De nævnte Forfattere finde nemlig Glutenfremstilling umuliggjort, naar de i Stedet for Vand anvende en 20 °/os Kogsaltopløsning, eller naar Melet først udvaskes med en 15 °/os Opløsning, med fortyndet Saltsyre (1 pro mille) eller med fortyndet Sodaopløsning, og de angive, at Grunden hertil dels er Globulinernes Fjernelse ved Udludning, dels Saltets Virkning paa Fermentet. Opvarmning i 2—4 Døgn til 60° skal ligeledes have gjort Glutenfremstilling umulig. Forsøg paa at udvinde det formodede Ferment gave intet Resultat. Iøvrigt meddeles i Afhandlingen ingen Detailler, saa at Angivelserne ofte blive meget vage. Peligot, der i sin nævnte Lærebog synes at sympathisere med Fermenthypothesen, i hvilken han ikke ser Modsigelser mod egne Forsøg, bemærker ogsaa, at nye Forsøg dog ere nødvendige, førend Hypothesen kan accepteres.

Imidlertid havde Hr. Laboratorieforstander Kjeldahl lejlighedsvis anstillet en Del Forsøg over Spørgsmaalet, hvilke dog ikke bleve offentliggjorte[3]), da Fremstillingen af det hypothetiske Ferment ikke lykkedes. Hvad der ikke desto mindre gjorde Fermenthypothesen meget sandsynlig, var en særdeles i Øjne faldende Overensstemmelse mellem Temperaturens Indflydelse paa tidligere undersøgte Fermenters Virkning[4]) og paa Glutenfremstillingen. Behandledes Melet ved 0°, fik man saaledes intet eller næsten

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 1, p. 96.

[2]) Berichte d. deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 13, 1880. p. 367.

[3]) Gottlieb, p. d. anf. Sted, p. 385 o. fr. meddeler nogle af Kjeldahls Iagttagelser, som han tildels bekræfter. — Hr. cand. polyt. Ph. Gram, som assisterede ved Forsøgene, har velvilligt meddelt mig alle sine Optegnelser, der her ere benyttede med Hr. Kjeldahls Samtykke.

[4]) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Bd. 1, S. 136, 180 og 331.

intet Gluten, men derimod ved stigende Temperatur mere og mere indtil c. 40°; herudover aftog atter Glutenmængden. Som Exempel kan følgende Forsøg anføres.

Portioner à 40 Gram Mel hensattes, jævnlig omrørte, i Vandbad ved de paagjældende Temperaturer, indtil Melet omtrent havde antaget disse; derpaa tilsattes 30 Gram (75 %) af det ligeledes rigtigt tempererede Vand. Efter udført Æltning atter Henstand i Vandbad 1/2 Time. (Ved 0° henstod Prøven dog i Isvand 2 1/2 Time). Derpaa udvaskedes Dejen over en Haarsigte med Ledningsvand, hvis Temperatur var c. 15°. Glutenet vejedes i fugtig Tilstand. Resultatet ses af følgende Tabel.

Temperatur	0°	5°	10°	15°	25°	40°	50°	60°	70°
Glutenmængde; i Gram:	0	6	10	11,5	13	15,5	11,5	7	4
— ; i % af Melet:	0	15	25	28,8	32,5	38,8	28,8	17,5	10.

Dette Forhold peger unægtelig stærkt hen paa et Ferments Nærværelse, med hvilken Antagelse ogsaa de andre af Hr. Kjeldahl foretagne Forsøg harmonerede. Saaledes spiller — som det allerede ovenfor blev omtalt — den Tid, i hvilken man lader Dejen henligge før Udvaskningen, en betydelig Rolle. Exempelvis anføres følgende to Forsøgsrækker. Til de enkelte Bestemmelser anvendtes 40 Gram Mel + 30 Gram Vand (75 %).

I. Ved Stuetemperatur, c. 19°.

Udvasket strax efter Æltning:	1 Gram	friskt Gluten	(2,5 % af Melet)
— 5 Min. - —	4 -	—	(10 %)
— 10 — - —	8,5 -	—	(21,3 %)
— 20 — - —	10 -	—	(25 %.)

II. Ved 40°. (Optimumstemperaturen, saml. ovenfor.)

Udvasket strax efter Æltning:	0,5 Gram	friskt Gluten	(1,3 %)
— 15 Min. - —	9,5 -	—	(23,8 %)
— 60 — - —	11,2 -	—	(28 %.)

Ved de S. 334—35 anførte egne, saa vel som ved de franske Forsøg fandtes dog langt ringere Differenser, hvilket især skyldes Forskjel i de anvendte Sigters Finhed. Her anvendtes saaledes Haarsigte, i de tidligere anførte Forsøg derimod Flor. Nærmere herom S. 343.

Kjeldahl har end videre vist, at den til Dejen anvendte Vandmængde har stor Indflydelse; over 60 % Vand til Dejen giver kjendeligt mindre Gluten, og med meget større Vandmængder faaes intet eller kun lidet Gluten. Fremdeles formindskede fortyndet

Syre, anvendt i Stedet for Vand til Dejens Tilberedning, ikke Glutenmængden før end ved en vis Concentration, Svovlsyre f. Ex. $^1/_{40}$ normal. Den ringe Nøjagtighed, hvormed der arbeides, tillader ikke at afgjøre, om ganske ringe Syremængder gave et Plus af Gluten, i Lighed med Diastasens Forhold; de foreliggende Tal tyde derpaa og staa i alt Fald ingenlunde imod Fermenthypothesen. Ligeledes hindrede Kvægsølvtveklor, selv i meget svag Opløsning (0,1 %), og andre Metalsalte Glutendannelsen.

Endelig var der ét Forhold, som meget bestyrkede Formodningen om Fermentet, nemlig det, at, naar man blandede friskt Hvedemel med gammelt, ikke Gluten givende, eller med Bygmel, saa fik man — ved passende Blandingsforhold — meget større Mængder Gluten, end der kunde ventes af det friske Hvedemel alene. Saaledes gav f. Ex., efter $^3/_4$ Times Henstand

20 Gram Bygmel + 15 Gram Vand: 0 Gram Gluten,
20 Gram Hvedemel + 15 Gram Vand: 6,5 Gram Gluten,
men 20 Gram Hvedemel + 20 Gram Bygmel
+ 30 Gram Vand: 9,5 Gram Gluten.

Dette sidstnævnte Gluten var af en musgraa Farve.

En Prøve gammelt Hvedemel gav næsten intet Gluten,
20 Gram + 15 Gram Vand: 1,7 Gram Gluten,
20 Gram nyt Mel + 15 Gram Vand: 6,5 Gram Gluten,
20 Gram gammelt + 20 Gram nyt Mel
+ 30 Gram Vand: 12 Gram Gluten.

Andre Forsøg have ikke altid givet saa gunstige Resultater som de her fremdragne; oftest maa der tilsættes en forholdsvis større Mængde godt Hvedemel for at faa Virkningen frem.

I alle de meddelte Forsøg laa det nær at anvende Fermenthypothesen til Forklaring af Resultaterne; det eneste, der manglede, var Isoleringen af selve Fermentet. Forskjellige Fremgangsmaader prøvedes, alle med negativt Resultat, hvorfor Hr. Kjeldahl foreløbigt stillede Sagen i Bero.[1])

Ved at sysle med udbulnede Hvedekorn, bemærkede jeg, at, naar man gjør et Indsnit tværs over Kornet og derpaa hurtigt bryder det over, saa dannes der fra Kjærnen øjeblikkelig kortere

[1]) Antydninger, der lode haabe et gunstigt Resultat, manglede ganske vist ikke; saaledes fik Assistent Gram én Gang et ringe Glutenudbytte af ophedet og atter afkølet Mel, naar Dejen tilberedtes med et Udtræk af Hvedemel, medens han, ved Anvendelse af Vand ikke fik Gluten. Senere lykkedes sligt dog ikke. (Sml. Klidudtræks Virkning, S. 353 Anm. 2.)



eller længere, seje Traade, der ganske synes at have Glutens Karakter, hvilket ogsaa bekræftedes ved mikroskopisk Iagttagelse. Min Tro paa Glutenfermentet rokkedes noget derved, og end mere, da det viste sig, at gulmodne, endnu friske Hvedekorn frembøde det samme Forhold, sædvanligt endog tydeligere. Jeg søgte derfor Spørgsmaalet belyst ved nogle Kontrolprøver med et »kunstigt« Mel, som fremstilledes af Hvedestivelse og tørt, pulveriseret og gjennem fineste Flor sigtet Gluten.

Gluten af friskt Hvedemel blev efter Ritthausens Forskrift[1]) tørret ved Æltning i absolut Alkohol, og derpaa i Exsiccator i Vacuum befriet fra Resten af Alkohol og Vand. Det færdige »kunstige Mel« indeholdt saa meget tørt Gluten, som svarede til 28—30 % friskt. Dette Mel lod sig godt anvende til Glutenfremstilling paa almindelig Maade; det fordrede noget mere Vand for at give en tjenlig Dej. Overfor Varme, Syrer, Sublimat o. s. v. forholdt det sig ganske som almindeligt Mel.

Temperaturens Indflydelse ses af følgende Forsøgsrækker, udførte paa lignende Maade som de S. 339 nævnte Forsøg. Kun foretoges Udvaskningen med Vand af den paagjældende Temperatur[2]).

I. Anvendt Portioner à 50 Gram Mel + 30 Gram Vand (60%). Udvaskning efter 1/2 Times Henstand gav:

ved c. 9° [3]):	6,2 Gram friskt Gluten	(12,4 %)
- c. 19°:	8,2 — - —	(16,4 %)

[1]) »Die Eiweisskörper etc.« p. 30.

[2]) Denne Afvigelse har dog ikke synderlig Betydning, som det bl. a. fremgaar af følgende, exempelvis anførte Forsøg: Hvedemel gav med 60 % Vand ved 20°: 27 % Gluten. Ved 40° erholdtes, naar Udvaskningen skete ved 15°: 32 %; ved 40°: 30 %. Ved 50° fik man, ved Udvaskning ved 15°: 27,8 %; ved 50°: 26 % — Afvigelserne vare endnu mindre ved det Side 335 omtalte Parallelforsøg.

[3]) Melet til denne Bestemmelse, der skulde foretages ved 0°, stod 24 Timer i Isvand i et koldt Rum (c. 3°) og havde ved Forsøgets Begyndelse c. 2°; Æltningsvandet og Morteren 1,5°. Ved Æltningen steg, paa Grund af Arbejdet, Dejens Temperatur til 9° og forblev uforandret under Hvilen. Ved Anvendelse af mere Vand (II.) var Arbejdet ved Æltningen, og dermed Temperaturforhøjelsen, forsvindende.

Tilsvarende Forhold forklare Afvigelsen mellem Kjeldahls og Gottliebs Angivelser. Naar den sidstnævnte altid ved 0° fik Gluten dannet (sml. det anførte Sted, S. 387), saa ligger det utvivlsomt deri, at han til Dejen anvender 50 % Vand, Kjeldahl derimod 75 %, ved hvilken sidste Vandmængde Arbejdet ved Æltningen er forsvindende. Fremstillet paa den af Gottlieb angivne Maade, vil Dejen ikke kunne faas under 6—8°.

ved 30°:	9,0	Gram	friskt	Gluten	(18,0 %)
- 40°:	5,0	—	-	—	(10,0 %)
- 50°:	0,5	—	-	—	(1,0 %)
- 60°:	0	—	-	—	(0 %).

II. Anvendt Portioner à 50 Gram Mel + 35 Gram Vand (70 %); ellers som I. Resultatet var:

ved c. 2°:	0	Gram	friskt	Gluten	(0 %)
- 22°:	8,5	—	-	—	(17 %).

Efter 3 Timers Henstand vandtes ved c. 2°: 0,3 Gram = 0,6 % Gluten.

III. Med et andet »kunstigt« Mel, fremstillet ved Blanding af 200 Gram friskt Gluten med 500 Gram Kartoffelstivelse, Tørring ved c. 30—40° og derpaa følgende Pulverisering og Sigtning, foretoges følgende Forsøg, som slutter sig til de forrige. Det udførtes med Portioner à 40 Gram + 25 Gram Vand (62,5 %), ellers som I. Der vandtes:

ved c. 8°:	5,4	Gram	friskt	Gluten	(13,5 %)
- 15°:	7,0	—	-	—	(17,5 %)
- 22°:	7,9	—	-	—	(19,8 %)
- 26°:	8,2	—	-	—	(20,5 %)
- 37°:	6,4	—	-	—	(16,0 %)
- 43°:	4,2	—	-	—	(10,5 %)
- 48°:	2,4	—	-	—	(6,0 %).

Kvægsølvtveklor (Sublimat) virkede paa kunstigt Mel som paa almindeligt Hvedemel. Exempelvis følgende:

40 Gram Hvedemel, æltet med 20 Gram Vædske (50 %), gav:

med Vand :	9,5	Gram	friskt	Gluten	(23,8 %)
- Sublimatopl. 0,1 %:	6,5	—	-	—	(16,3 %)
- — 1 %:	0	—	-	—	(0 %).

Samme Mængde kunstigt Mel gav, æltet med 25 Gram Vædske (62,5 %):

med Vand :	6,4	Gram	friskt	Gluten	(16 %)
- Sublimatopl. 0,1 %:	2,4	—	-	—	(6 %)
- — 1 %:	0	—	-	—	(0 %),

altsaa ogsaa her en paafaldende Analogi. At der i de Kjeldahl'ske Forsøg (S. 340) slet intet Gluten vandtes, selv ved en kun 0,1 % holdig Sublimatopløsning, er vel begrundet i den ved disse Forsøg anvendte større Vandmængde, et Forhold, som vi nedenfor komme tilbage til.

Ogsaa fortyndede Syrer, saa vel som Saltopløsninger, virkede paa ganske lignende Maade paa kunstigt som paa naturligt Mel. — Ved alle disse Overensstemmelser, særlig med Hensyn til Temperaturens Indflydelse, taber Glutenferment sine bedste Støtter, om den end endnu ej direkte er modbevist. Melets Forhold til Sublimat og Syre blev derfor underkastet en nøjere Prøvelse, der gav Resultater, som vel neppe kunne forenes med Fermenthypothesen; i alt Fald maatte Glutenfermentet indtage en Særstilling udenfor de andre Fermenter.

I alle ovenfor (undtagen i Indledningen) meddelte Forsøg har man ladet Udvaskningen foregaa over en middelfin Haarsigte. Medens man, ved at tilsætte 50—60 % Vand til Melet, ikke faar mere Gluten ved at ombytte Haarsigten med en Sigte af fineste Flor, saa spiller dog Sigtens Finhed en betydelig Rolle ved vandrigere Dej, ligesom ogsaa, naar Glutenudbyttet nedsættes ved andre skadelige Indvirkninger. Saaledes vandtes efter ½ Times Henstand af Dej, tilberedt med

	Udvasket over Florsigte.	Udvasket over Haarsigte.
50 % Vand	25 % Gluten	25,5 % Gluten
80 % —	25 % —	20 % —
100 % —	11 % —	0 % —

Endnu tydeligere træder Forholdet frem ved Forsøg over Tidens Indflydelse, som det vil ses af nedenstaaende Tabel. For lettere Oversigts Skyld angives Udbyttet af friskt Gluten kun i Procent af Melets Vægt.

Udvasket	50% Vand til Dejen.		75% Vand til Dejen.		100% Vand til Dejen.	
	Haarsigte.	Florsigte.	Haarsigte.	Florsigte.	Haarsigte.	Florsigte.
strax	21,3	24,6	4,5	20,0	0	7,5
efter 10 Minuter	24,6	25,3	20,0	24,6	0	9,8
- 20 —	26,0	26,0	22,3	25,3	0	11,8
- 30 —	26,5	26,3	24,6	25,3	0	11,7
- 60 —	27,3	26,9	26,5	26,5	0,8	12,3

Det er derfor vigtigt at benytte Florsigte, naar man vil konstatere Dannelsen eller Forekomsten af ringere Mængder eller sprødere Gluten, idet Partiklerne heraf bortskylles gjennem Haarsigten, hvis de ikke let kunne forene sig til større sammenhængende Klumper eller Traade.

Dette vil yderligere belyses, naar man i de to følgende Tabeller betragter Kvægsølvtveklorets Indflydelse paa Glutenmængden. Forsøgene udførtes i begge Rækker saaledes: Portioner à 40 Gram Mel æltedes med Vædsken til Dej. Efter Henstanden udvaskedes Halvdelen over Flor-, den anden Halvdel over Haarsigte. Temperaturen var c. 20°, Vaskevandet var almindeligt Ledningsvand. Tallene betyde det samme som i den sidst nævnte Tabel.

I. Af Mel, som med 50 % Vand efter 20 Minuters Henstand gav 29,5 % Gluten, vandtes i samme Tid:

Dejen tilberedt med:	50 % Vædske til Dej.		75 % Vædske til Dej.		Anmærkninger.
	Haarsigte.	Florsigte.	Haarsigte.	Florsigte.	
Sublimatopløsning 0,1 %	29	29	12,5	25	omtrent som normalt Gluten.
— 0,2 %	26	28	13	25	noget grynet og »kort«.
— 0,4 %	25	28	0	6	meget grynet og »kort«.

II. Af Mel, der med 50 % Vand i 20 Minuter gav 28 % Gluten, vandtes:

Dejen tilberedt med 50 % Vædske.	Henstand i 20 Minuter.		Henstand i 20 Timer.	
	Haarsigte.	Florsigte.	Haarsigte.	Florsigte.
Sublimatopløsning 0,2 %	26	26	2	15
— 0,4 %	20	25	1	11
— 1 %	13	19	0	0

Glutenet (fra II), vundet ved tidlig Udvaskning, havde ved Anvendelse af 0,2 %'s Sublimatopløsning omtrent normalt Glutens Konsistens (og 62 % Vand); ved 0,4 % Sublimat var Glutenet meget »kort« og ved 1 % Sublimat meget usammenhængende og vanskeligt at samle. Efter 20 Timers Henstand var det, selv ved kun 0,2 % Sublimat, temmelig svært at »samle« Glutenet ved Udvaskningen, det opnaaedes jo ogsaa kun ufuldkomment. Ved Anvendelse af 0,4 % Sublimat var Glutenet tørt og usammenhængende (Vandmængden c. 60 %); ved 1 % Sublimat tilbageholdt Florsigten en Smule graat Pulver.

I tynde Opløsninger virker Sublimatet altsaa først efterhaanden nedsættende paa Glutenudbyttet; stærkere Opløsninger have vel strax nogen Virkning, men denne forøges betydeligt ved Dejens Henstand. Derfor synes den Antagelse simplest, at Sublimatet virker ved efterhaanden at »garve« de i færdig Tilstand tilstedeværende Glutenpartikler, saaledes som det jo alene kan være Tilfældet for kunstigt Mels Vedkommende.

Ganske vist bevise de anførte Forsøg endnu ikke Umuligheden af et Ferments Medvirkning ved Glutendannelsen; men de gjøre dog i hvert Tilfælde Fermenthypothesen ganske overflødig. Dog, én Gang opstillede, kunne slige Hypotheser være meget sejlivede. Det er derfor maaske ikke unyttigt at skildre, hvorledes alle de Forhold ved Glutentilberedningen, der synes at tale for Fermentet, lade sig forklare uden Hensyn til et saadant[1]).

Hvad saaledes først angaar Bischoff & Weyl's Angivelse, at Melet taber sin Gluten givende Evne, naar det i nogen Tid holdes opvarmet ved 60°, da bekræftes denne Iagttagelse ingenlunde af andre Undersøgelser[2]), ligesom heller ikke jeg har fundet lavere Gluten-Udbytte efter en slig Behandling. Der findes iøvrigt med Hensyn til Varmens Indflydelse paa det tørre Mel ganske modstridende Angivelser. Medens saaledes Peligot[3]) angiver, at Tørring ved 120° (!) kun forringede Gluten-Udbyttet fra 9 % (tørt Gl.) til 7,5 % — naar Dejen blot blev hensat længere Tid end normalt (c. 12 Timer) —, saa fandt derimod i alle de ved Assistent Gram udførte Forsøg en betydelig Formindskelse af Glutenudbyttet Sted, naar Melet holdtes opvarmet ved 100° i 2—20 Timer. Forskjellige Melprøver forholdt sig dog noget forskjelligt; medens saaledes f. Ex. én Prøve efter 20 Timers Ophedning gav c. 1/8 af det normale Udbytte, vandtes af en anden Prøve, behandlet paa samme Maade, slet intet Gluten. Ja, denne Prøve gav efter kun 2 Timers Opvarmning ved 100° blot 1/11 af det normale Udbytte. Mine Forsøg vise ligeledes en stor Forskjel mellem Prøverne; i ét Tilfælde mistede Melet ganske Evnen

---

1) At man af Hvedemel, ved Behandling med ikke for stærk Vinaand, kan udtrække visse Glutenbestanddele, beviser paa Forhaand intet mod et Ferments Nærværelse. Her bringes i Erindring, at Emulsinets Virkning paa Amygdalin ikke ophæves af Vinaand under c. 35 %. (Wernitz, Ueber die Wirkung der Antiseptica auf ungeformte Fermente. Dissert. Dorpat 1880. p. 24).

2) Gottliebs Angivelser (p. d. anf. Sted S. 384) synes at være rent refererende.

3) Annales de chim. et de phys. 3. série, T. 29. p. 22.

til at give Gluten efter 20 Timers Opvarmning (100°), i andre Tilfælde var Tabet langt ringere.

Hvorpaa disse Forskjelligheder bero, maa foreløbig staa uafgjort. Selve Tørringen af Melet virker ikke nedsættende paa Gluten-Udbyttet, hvilket ses deraf, at Melprøver, tørrede ved flere Ugers Henstand over Svovlsyre, saa at Vandindholdet var højst 0,5 à 1 %, gave ganske den samme Mængde Gluten som normalt, naar den tilberedte Dej blot indeholdt den almindelige Vandmængde. Efter Tørring i Exsiccator virker iøvrigt Ophedning til 100° næppe nedsættende paa Gluten-Udbyttet; da jeg imidlertid ikke paany har været saa heldig at træffe en Melprøve, der ganske tabte sin Gluten givende Evne ved Ophedning, tør jeg ikke paastaa, at det altid er en større Vandrigdom (?), der gjør en Melprøve mere følsom. Exempelvis anføres her et Forsøg, der ganske vist giver Antydning i denne Retning.

100 Gram friskt Mel, Vandindhold 14,1 %, hensattes over Svovlsyre fra den 21/12 86—13/1 87 og vejede da 86,5 Gram; Tab 13,5 % Vand. Vandmængden i dette Mel bestemtes: 0,50 %. To Portioner, à 20 Gram, af det friske Mel hensattes i Tørreovnen (Vandbad) ved 97—99°, sammen med to tilsvarende Portioner (à 17,3 Gram) af det tørrede. Efter 3, resp. 24 Timers Ophedning, udtoges Prøverne. Efter at de vare afkølede, tilberedtes Dej, svarende til 20 Gram frisk Mel + 10 Gram Vand. Udvaskningen foretoges efter 1/2 Times Henstand. Resultatet ses af Tabellen.

	Friskt Mel.		Exsiccatortørret Mel.	
	% Vand i Melet.	% Gluten.	% Vand i Melet.	% Gluten.
Melet ikke opvarmet	14,1	31	0,5	30,5
Opvarmet i 3 Timer	0,6	24	0,5	29,5
— i 24 —	0	22,5	0,5 (?)	30,5

At alle disse Forhold søges forklarede ved begyndende Koagulationsfænomener o. l. ved Melprøvernes Proteïnstoffer, turde være fuldt saa berettiget som at formode et Ferments Nærværelse.

Stærke Saltopløsningers Virkning forklares simplest ved, at Glutenpartiklerne ikke bulne ud i disse Opløsninger;

derfor kunne de i Melet spredte Smaadele ikke klæbe sammen og samles til én Masse[1]).

Temperaturens Indflydelse ved selve Tilberedningen af Glutenet er ej heller vanskelig at forstaa uden Hensyn til noget Ferment. I Kulden sker Udblødningen af Proteïnstofpartiklerne meget langsomt — tilsvarende Forhold kjendes godt fra Spiringens Fysiologi —, og Partiklernes Volumen, saa vel som deres Klæbrighed, bliver herved betydelig mindre. Smaadelene forenes ikke, men skylles bort gjennem Sigten, hvis Finhed ogsaa her spiller en Rolle. I Heden ser man tydeligt, at Proteïnpartiklerne »skilles ad« eller rettere, at de ikke saa godt klæbe sammen. Om det er begyndende Koagulationsfænomener, en betydelig Opløsning især af »Plantelimen«, eller begge Forhold, der fremkalde Resultatet, er ikke afgjort. Med Varmen stiger ogsaa den skadelige Indflydelse af meget Vand til Dejen, især hos »kunstigt Mel«, der jo er mere følsomt end naturligt Mel, da dets Glutendele ere mindre klæbrige. Exempelvis anføres:

Kunstigt Mel, Dejen henstod 1/2 Time. Udvaskningen over Haarsigte.

Temperatur.	Dejen tilberedt med	
	60 % Vand.	70 % Vand.
19°	32,8 % Gluten	—
25°	—	34 % Gluten
35°	36 % Gluten	0 % -

Hvad angaar Virkningen af Dejens Henstand, da forstaas den ogsaa let af den større Udblødningsgrad (Klæbrighed), som Glutenpartiklerne opnaa ved Dejens længere Henstand, et Forhold, der ogsaa tydeligt giver sig til Kjende ved den større Vandrigdom hos Gluten, vundet efter Dejens længere Henstand (sml. denne Afhdl. S. 334—35).

Den uheldige Indflydelse, som en altfor rigelig Vandmængde i Dejen udøver, en Indflydelse, der, som anført S. 343, forøges ved Anvendelsen af grovere Sigte, forklares ligeledes rent

[1]) Jfr. Gottliebs Forsøg med ulige stærke Glycerinopløsninger, samt hans Udvaskningsforsøg (p. d. anf. Sted S. 387—388). Nærmere om forskjellige Saltes o. a. Virkning paa Gluten ses hos Balland. Journal de pharm. et de chim., 5. série T. 8, 1883 p. 360 og 438.



mekanisk. Helt bortsét fra den utvivlsomt betydeligere Opløsning af »Plantelim«, vil den større Vandmængde vanskeliggjøre Glutenpartiklernes Forening til én, Stivelsekornene omspændende, Masse. Thi ikke alene fjernes Partiklerne længere fra hverandre; men under Æltningen blive de fremkomne isolerede Smaaklumper udvaskede hver for sig, hvorved deres Volumen aftager meget betydeligt og Sammensmeltningen selvfølgelig yderligere besværliggjøres. Fig. 1 illustrerer dette Forhold. To Portioner Mel udrørtes med henholdsvis 50 og 100 Procent Vand, der var farvet med Methylviolet, hvorpaa en Del af Dejprøverne æltedes og udtværedes mellem to Glasplader. Da Farvestoffet som bekjendt fixeres af de uopløste Æggehvidestoffer, var det let at iagttage Forskjellen mellem de to Dejprøvers Struktur, især efter en ringe Udskylning. Medens Glutenet af den med 50 % tilberedte Dej omspændte Stivelsen og dannede store sammenhængende, men mindre rene Klumper (venstre Side i Fig.), saas Glutenet af den vandrige Prøve at være adskilt i mange smaa, langt renere, paa Grund af Rulningen mellem Glaspladerne pølseformede Klumper (højre Side i Fig.), der laa frit mellem de ikke farvede Stivelsekorn o. a. Smaadele. Det er klart, at Tabet ved Bortskylning og Opløsning maa være langt større ved Udvaskningen af denne end ved den vandfattigere Dej, samt at Sigtens Finhed maa spille en stor Rolle (sml. S. 343).

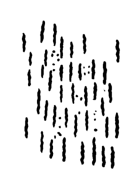



Fig. 1.

I det ved Fig. 1 illustrerede Exempel er valgt den største og den laveste af de anvendte Vandmængder, ved de mellemliggende Værdier iagttages Overgangsformer.

Ligesom man med meget Vand fortynder Dejen, saaledes kan man »fortynde« Melet med Stivelse, og man opnaar da en lignende Virkning: Glutenpartiklernes Fjernelse fra hverandre, større Bortskylningstab, ja endog fuldstændig Bortskylning. Blander man derimod godt, glutenrigt Mel med Bygmel eller Mel, der, f. Ex. ved Ophedning, har tabt sin Gluten givende Evne, saa kan det gode Mels Gluten ved Æltningen omfatte og sammenbinde de uopløste Proteinstof-Partikler i de tilsatte Melsorter, og derved kan da vindes et langt større Udbytte. Saaledes forklares de S. 341 omtalte Forsøg simplest. Her skal ogsaa erindres, at Balland, for at uddrage »Gluten« af findelte Klid, ælter disse med en friskt tilberedt Glutenklump, der da efter ny Udvaskning

er tiltaget betydeligt i Vægt[1]). Alle disse Fremtoninger forstaas let uden Fermenthypothesen, ja denne vilde her ikke engang være tilstrækkelig til Forklaring.

Fortyndede Syrer og Alkalier ville alt efter Koncentrationen hurtigere eller langsommere opløse Glutenet og alene af den Grund hindre Dannelsen af en sammenhængende Klump; Antagelsen af en ødelæggende Virkning paa et Ferment behøves ingenlunde.

Hypothesen om et Gluten dannende Ferment er altsaa ganske overflødig; man er berettiget til at betragte Glutenet som færdigt dannet i Hvedemelet, lige saa vel som Stivelsen, hvad fuldt ud bekræftes af de mikroskopiske Undersøgelser, der meddeles i det følgende Afsnit.

II.

Det er i Hvedekornets Frøhvide (»Melkjærnen«), at man kan vente at finde Glutenets Plads. I Skallen findes ikke andet Æggehvidestof end hvad der indprægnerer de fortørrede Cellevægge; i Kimen ere de betydelige Mængder med Fedt gjennemtrængte Æggehvidestoffer, der udgjøre Hovedbestanddelen af Cellernes Indhold, kun lidet klæbrige ved Udbulning i Vand, saaledes at Dannelsen af en Glutenklump ikke lader sig udføre ved Hjælp af Kimen alene. Da denne tilmed kun udgjør c. 1,5 % af Hvedekornets Vægt og for største Delen gaar over i Kliden, kan den ikke spille nogen væsentlig Rolle ved Glutenfremstillingen.

Hvedens Frøhvide (sml. Fig. 2) bestaar af ét sammenhængende Hele, et eneste System af Celler, der ikke staa i organisk Forbindelse med de andre af Kornets Væv. Frøhvidens yderste Lag Celler udmærke sig ved tykke Vægge, meget tydelige Cellekjærner og et andet Indhold, end de indre Celler. Disse periferiske Celler have spillet en vis Rolle i Glutenets Historie; de betegnes oftest »Glutenceller«, og det er endnu en temmelig almindelig Opfattelse, at Glutenet findes i disse Celler, trods de forskjellige Indvendinger, der ere blevne gjorte herimod. Det er derfor neppe overflødigt atter at omtale Oprindelsen til og det urigtige i denne Opfattelse, saa meget mere, som Sagen har en vis Interesse ogsaa for Spørgsmaalet om Klidens Næringsværdi.

---

[1]) Journ. de pharm. et de chim. 5. série. T. 11 p. 76. Denne Methode er dog af tvivlsomt Værd.



Forinden de seneste Decenniers Undersøgelser over Planternes kvælstofholdige Bestanddele havde begyndt at adskille de forskjellige Proteïnstoffer, Amidoforbindelser o. s. v. fra hverandre, gjaldt saa at sige al kvælstofholdig Substans i Planten for Æggehvidestof — det var jo ogsaa med denne Opfattelse, at man troede at kunne bestemme et Stofs Næringsværdi ved at bestemme Kvælstofmængden —, og Glutenet, opfattet som et enkelt Stof, betragtedes da som Type for Planternes Proteïnstoffer[1]), ligesom Hønse-Æggehviden har været det for Dyrenes. Da nu kemiske Analyser havde vist, at Klidene vare rige paa kvælstofholdige Stoffer, der altsaa sattes lig med Gluten, førtes man ganske naturligt til at betragte de periferiske Celler, der jo for største Delen gaa over i Kliden, som særlig rige paa »Gluten«. Og da Botanikeren Th. Hartig i Halvtredserne opdagede de saakaldte Proteïnkorn[2]), der navnlig let iagttages i olieholdige Frø — hvilken Opdagelse førte ham til den overilede Slutning, at alt i Frøene opmagasineret Proteïnstof var til Stede som

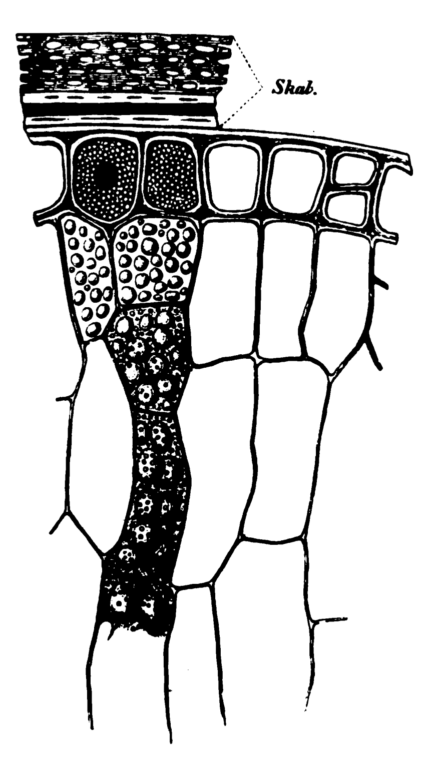


Fig. 2. Tværsnit af et Hvedekorn. Brudstykke c. $^{250}/_{1}$.

slige Korn —, fik Kornene bl. a. Navnet »Klebermehl«, d. e. »Glutenmel«, et Navn, der altsaa bærer Mærke af hele to Anskuelser, 1) at Frøs Proteïnstof er ligt Gluten, og 2) at dette Gluten kun findes i Form af smaa Korn. Saadanne Navne, der »betyde noget«, ere som bekjendt de bedste Ankere for urigtige

[1]) I Forbindelse hermed staar utvivlsomt den udbredte, men urigtige Anskuelse, at Gluten kan vindes af andre Frøsorter end Hveden.

[2]) Botanische Zeitung 1855 & 1856. Hovedafhandlingen findes i Hartig: Entwickelung des Pflanzenkims. 1858.

Theorier[1]); der er faa Betegnelser, der i en simpel Sag have afstedkommet større Forvirring end just »Klebermehl« i Spørgsmaalet om Kornsorternes og i det Hele Frøenes Oplagsnæring.

Da Hartig nemlig i det nævnte yderste Lag Frøhvideceller, i Modsætning til de indre, mente at finde en Mængde smaa, men tydelige og meget resistente Proteïnkorn, hvilket stemmede godt med Klidanalyserne, saa fik disse Celler i den tyske Litteratur efterhaanden Navnet »Kleberzellen« eller »Kleberschicht«, hos os »Glutenceller« og »Glutenlag«, og herved støttes uvilkaarligt den Anskuelse, at Glutenet har sin Plads i disse Celler.

Men dette er ganske urigtigt. Der har stedse været Stemmer, der hævdede den Opfattelse, at Glutenet ikke findes i de nævnte, men i de indre Frøhvideceller. Den vigtigste herhen hørende Litteratur er nævnt i min Afhandling om Byggens Frøhvide[2]); siden dennes Publikation har navnlig Aimé Girard[3]) drøftet Sagen. Da imidlertid de af denne Forfatter, saa vel som af de ældre, anvendte Methoder ved den mikroskopiske Undersøgelse give urigtige Resultater, idet bl. a. Proteïnkornene ødelægges, skal jeg henvise til min nys nævnte Undersøgelse, der viser, at Cellerne indeholde, foruden Kjærnen, smaa yderst lidet resistente Proteïnkorn (de af Hartig nævnte og ved almindelig Præparation i Vand iagttagne Korn, der sædvanlig holdes for Proteïnkorn, ere Fedtdraaber), der ligge indlejrede i en blød, med Fedt gjennemtrængt plasmatisk Grundmasse. Gluten kan ikke fremstilles af disse Cellers Indhold, der ved Behandling med Vand adskilles i Smaapartikler. Iøvrigt gaar, som sagt, disse Celler for største Delen over i Kliden.

Men Glutenet findes, hvad allerede Payen[4]) angav, i de indre Celler. Fig. 2 viser, hvorledes de nærmest det periferiske Lag liggende Celler ere mindre end de dybere inde værende; endvidere ses, at Stivelsekornene i de ydre Celler ere af Middelstørrelse og ligge mere isolerede, medens de i de indre Cellelag ere stillede langt tættere sammen og forekomme baade som meget store og som ganske smaa Korn. Gjennem hele Frøhviden ere Stivelsekornene indlejrede i den indtørrede Celleslim, ganske som

---

[1]) Interessante Oplysninger om dette Forhold findes i Tegnérs lille Bog: Språkets makt öfver tanken. Stockholm 1880.

[2]) »Meddelelser« Bd. 2, 3 Hefte, 1884 p. 118—120.

[3]) Annales de chimie et de physique. 6me série, T. 3. 1884. p. 289—355.

[4]) Paa det anførte Sted p. 12. Payens Figurer findes i T. 8, 1844.

hos Byg; men, medens denne »Grundmasse« er meget mægtig i de mod Omkredsen liggende Lag, bliver den spinklere og spinklere indad mod Kornets Midte.

Det er just denne Grundmasse, der indeholder Glutenet. Udpræpareres nogle af de Stivelse førende Celler, f. Ex. ved tangentiale Snit fra Kornets hvælvede Side, i tør Tilstand paa et Objektglas, da kan man let iagttage Dannelsen af Glutenklumper, naar man udtværer Cellernes Indhold i en Vanddraabe. Fig. 3 viser dette; man sér Stivelsekornene ligge mere eller mindre frit, medens Celleslimen — bortset fra de opløste Stoffer — er bleven til klæbrige, seje Masser og Traade af Gluten. Behandles andre Frøsorter paa denne Maade opstaar intet Gluten. Den øjeblikkelige Indtræden af Reaktionen synes at være et yderligere Bevis for, at Gluten virkelig er færdigt dannet tilstede; i modsat Fald maatte man antage, at Fermentet var fordelt jevnt i selve de Partikler, der blive til Gluten. Men efter alt, hvad der vides om kemiske Fermenter i hvilende Organer, synes de stedse at være lokaliserede andensteds end de Stoffer, de paavirke[1]). — Ved Præparationer af de inderst inde i Kornet liggende Celler synes denne Glutendannelse ikke saa let at ske, Celleslimen er her mindre klæbrig.

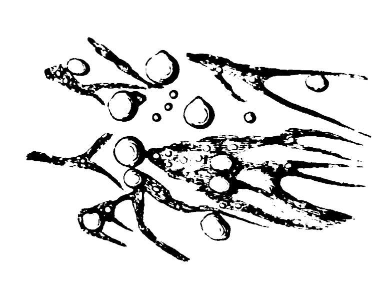


Fig. 3. c. $^{150}/_{1}$.

Efter alt, hvad der foreligger, kan det altsaa siges, at Glutenet udgjør Hovedmassen af Celleslimen i Hvedekornets Stivelse førende Frøhvideceller.

Angaaende de med Urette saakaldte »Glutenceller« — et Navn, der burde opgives — har Mège-Mouriès[2]) nogle mærkelige Angivelser, som i nyeste Tid, særlig af Girard (p. d. anf. Sted) ere blevne prøvede paany og delvis bekræftede. Mège-Mouriès, der især i Halvtredserne arbejdede ivrigt for at indføre

[1]) Om diastatiske Fermenter i Kornet vil der nedenfor blive Tale. I bittre Mandler findes Emulsinet og Amygdalinet i forskjellige Væv, hvad det er lykkedes mig at paavise. Udførligt herom er meddelt i »Botanisk Tidsskrift« Bd. 16, S. 222.

[2]) Compt. rend. T. 37. 1853. p. 351, p. 427 og p. 775; T. 38. 1854 p. 505.

de af ham foreslaaede Brødtilvirkningsmethoder, gjorde den Iagttagelse, at Kliden, eller rettere de nævnte Celler, indeholder et diastatisk Ferment. I Dej af klidholdigt Mel skal dette Ferment, ved at opløse og omdanne Stivelsen, bidrage til at fremkalde den hos Klidbrød saa vel kjendte Klæghed, medens derimod Stivelsen i det sigtede Mel — just paa Grund af de periferiske Frøhvidecellers næsten fuldstændige Fjærnelse — omdannes i langt ringere Grad under Dejens Tilberedning.

Men Mège-Mouriès overdrev Virkningen af disse Cellers Indhold, som han tillige tilskrev Egenskab af Mælkesyre-Ferment m. m., en Fejl, der havde sin naturlige Grund i den Tids mangelfulde Kjendskab til Bakteriernes hele Færd.

Balland[1]) har ved sine Studier mærkeligt nok ikke ganske undgaaet disse Skjær, idet han tilskriver selve Kornet (der siges: »en dehors de toutes causes extérieures«) et Gluten omdannende »uopløseligt« Ferment — d. v. s. altsaa en Organisme —, som han mener findes i de periferiske Frøhvideceller (»les membranes qui entourent l'embryon«), der, som oftere sagt, for en væsentlig Del gjenfindes i Kliden. Idet jeg med Hensyn til videre Detailler henviser til Ballands Publikationer, skal et af hans Forsøg anføres som Exempel.

100 Gram »gamle Klid« blev revet i 10 Minutter med 250 Gram koldt Vand; derpaa blev det hele presset i et Klæde. Den udvundne Vædske blev strax anvendt til at tilberede Dej af godt Mel. Efter ½ Times Henstand vandtes da 22 % Gluten; efter 2 Timers Henstand kun 14 %. Samme Mel, bragt til Dej med rent Vand, gav i samme Tidsrum henholdsvis 28 og 29 % Gluten.

Jeg har nu med Anvendelse af ganske friske Klid (fra de forenede Dampmøller) saa vel som med flere Prøver Handelsklid oftere gjentaget disse Forsøg, men aldrig faaet ringere Gluten-Udbytte, selv efter 24 Timers Henstand[2]). Var derimod Klidudtrækket blevet surt ved Henstand i et tillukket Glas i 2 à 3 Dage, saa vandtes kjendeligt mindre, resp. intet Gluten, saaledes som det fremgaar af følgende, exempelvis anførte Forsøg.

---

[1]) Paa det anførte Sted. T. 8. p. 501, og T. 12. p. 158.

[2]) Derimod vandtes i nogle Tilfælde større Glutenudbytte, aabenbart idet opslemmede eller opløste Proteïnstoffer fra Kliden have adderet sig til det i Melet værende Gluten. Exempel: 40 Gram Mel gav med 20 Cc. Vand efter 2½ Times Henstand: 11,5 Gram Gluten; med Klidudtræk vandtes 12,7 Gram. Sml. Anm. 1, S. 340.

Tre Prøver à 50 Gram Mel æltedes til Dej med 25 Cc. Vædske, henholdsvis Vand, friskt Klidudtræk og surt Klidudtræk (3 Dage gammelt). Efter 2 Timers Henstand udvaskedes Halvdelen af hver Dejklump, efter 20 Timer Resten. Der vandtes:

Dej tilberedt med	efter 2 Timers Henstand	efter 20 Timers Henstand
Vand	7,3 Gram Gluten	7,7 Gram Gluten
friskt Klidudtræk	7,7 — —	7,8 — —
surt Klidudtræk	5,6 — —	0 — —

At det ikke er den i Klidudtrækket dannede Syre (alene), der virker nedsættende paa Glutenudbyttet, fremgaar af følgende, ligeledes exempelvis anførte Forsøgsrække.

Anvendt samme Mel som i sidst nævnte Forsøg og et to Dage gammelt, surt Klidudtræk. En Del af dette blev filtreret gjennem to Lag Papir, en anden Del ophedet 2 Timer til 100° i et tilsmeltet Rør og atter afkølet.

Der vandtes af 25 Gram Mel:

Dej tilberedt med	efter 2 Timers Henstand	efter 20 Timers Henstand
ufiltreret Klidudtræk	7,8 Gram Gluten	0 Gram Gluten
filtreret —	7,8 — —	4,0 — —
Vand, hvori opslemmet Residuet fra Filtrering af 50 Cc. Udtræk	7,7 — —	0 — —
steriliseret Klidudtræk	ikke prøvet	8,2 — —

Idet Spørgsmaalet om Syrers Virkning ikke her skal forfølges, vende vi os til **Balland** for at pointere, hvad der her er af Vigtighed, nemlig, at der *ikke* i selve Kornets Væv findes noget stærkt virkende Gluten omdannende Ferment[1]), være sig opløseligt eller uopløseligt, men at de Iagttagelser, som **Balland** har gjort, maa føres tilbage til Bakterier, der hænge ved Kornets Skal, i dets Furer o. s. v., — kort sagt *ikke vedkomme Kornet som saadant.*

---

[1]) Fra de ringe Mængder peptoniserende Ferment, der dannes under Spiringen og muligvis under Hvilen findes i yderst smaa Mængder, kunne vi her se bort.

At de ved Kornet hængende Organismer spille en meget betydelig Rolle ved den frivillige Brødgjæring, fremgaar bl. a. af Laurents Studier, til hvilke her kun skal henvises[1]).

De periferiske Frøhvideceller indeholde altsaa, ifølge det meddelte, ikke Gluten og ej heller noget Gluten omdannende Ferment, men Proteïnkorn, lejrede i en Grundmasse af fedtrigt Protoplasma. Deres mest mærkelige Indhold er dog det diastatiske Ferment, om hvis Lokalisation i disse Celler og i Kimen der, efter Girards Forsøg, ikke længer er Tvivl. Ved at aabne og udfolde udblødte Hvedekorn, kan man uden Vanskelighed isolere de Stivelse førende Frøhvideceller samt Kimen, og det er da let at vise, at der ikke findes nogen — eller dog kun yderst svag — diastatisk Fermentevne i selve de Stivelse førende Celler, medens Kimen saa vel som de fra den egentlige Skal befriede periferiske Frøhvideceller have en meget betydelig Fermentevne. Vil man derfor have et særligt Navn for de nævnte Celler — og et urigtigt Navn fjernes bedst ved en ny Betegnelse —, saa ligger det nær at give dem Navnet Ferment-Celler.

Fermentcellernes Rolle ved Spiringen, bortset fra deres Indhold af Oplagsnæring[2]), vil ventelig staa i Forbindelse med Indholdet af Diastase. I denne Sammenhæng skal anføres Tangl's Undersøgelser af Græsfrugternes Frøhvide[3]), der førte til Paavisning af yderst fine Forbindelsestraade mellem de nævnte Celler og den indre Del af Frøhviden. Disse Forbindelsestraade ere imidlertid her af en saa særdeles delikat Natur, at de hidtil undgik Iagttagernes Blik, selv hvor de vare eftersøgte, og kun ved særlige Fremgangsmaader tydeliggjøres. Paa Grund af denne umaadelige Smalhed turde de næppe have den direkte Betydning for Stofvandring, som enkelte Forfattere (navnlig de Vries) mene at kunne tilskrive Nabocellers Forbindelsestraade i Almindelighed. De omtalte fine Traade opfattes her vel rettest som Levninger fra Frøhvidens yngste Stadier, Kjærnedelings-

---

[1]) Les microbes boulangers. Bull. de la soc. royale de Belgique. T. 24, 2me partie 1885.

[2]) Ved Spiringen opløses ikke alene Indholdet, men ogsaa de tykke, paa Cellestof rige Vægge svinde ind til tynde Hinder, idet Cellerne løsne sig fra hverandre og afrunde sig.

[3]) Sitzungsberichte d. k. Akad. d. Wiss., Bd. 92, 1 Abt. Wien 1885, Juli.

perioden. Derimod kunne, hvad ogsaa Tangl's Iagttagelser tyde paa, de fine Traade utvivlsomt lette Opløsningen af de gjennemsatte Vægge og derved indirekte faa Betydning for Stofvandring, i nærværende Tilfælde altsaa bl. a. for Ledning af Ferment til de Stivelse førende Celler. Om disse Forhold vides dog intet sikkert.

Maj 1887.

Carlsberg Laboratoriet.

April 1888 (Fortsættelse; see 1. Bind, Side 455).

Laboratoriets Bestyrelse bestaaer for Tiden af: Professor Barfoed, Formand, Professor Jørgensen, Brygger Kogsbølle, Direktør Kühle og Etatsraad Steenstrup. — Af dens tidligere Medlemmer afgik Professor Panum, som var gjenvalgt 1884, ved Døden 2. Maj 1885, og Kaptajn Jacobsen, som var gjenvalgt 1886, ligesaa 30. April 1887 under et Ophold i Rom. Til at indtræde i Bestyrelsen i deres Sted valgte Videnskabernes Selskab 15. Maj 1885 Lektor, nu Professor, Dr. phil. S. M. Jørgensen og 14. Oktober 1887 Direktør ved Gl. Carlsberg Bryggeri Kaptain S. A. van der Aa Kühle. Professor Barfoed og Brygger Kogsbølle, hvis Funktionstid efter Fondets Statuter udløb 24. September 1886, gjenvalgtes begge af Videnskabernes Selskab 14. Maj s. A., og Førstnævnte gjenvalgtes derefter af Bestyrelsen til Formand.

Laboratoriets Forstandere ere: Hr. Joh. Kjeldahl for den kemiske Afdeling og Hr. Dr. phil. Emil Chr. Hansen for den fysiologiske Afdeling.

Laboratoriets nuværende Assistenter ere: i den fysiologiske Afdeling Hr. Cand. phil. J. C. Holm, ansat fra 15. September 1884, og i den kemiske Afdeling Hr. Cand. mag. R. Koefoed, fast ansat fra 1. Oktober 1887, efterat han Aaret iforvejen havde været midlertidigt antaget fra 1. Oktober til 31. December. — De tidligere Assistenter, Hr. L. Knudsen i den fysiologiske og Hr. Ph. Gram i den kemiske Afdeling byttede, efter eget Ønske og for at udvide deres Kundskaber, Plads 1. Januar 1884 og forbleve i deres nye Stillinger, indtil de traadte ud af Laboratoriets Tjeneste, Hr. Gram nemlig 31. Marts 1885 og Hr. Knudsen 31. August 1885. — Hr. W. Johannsen fratraadte sin Plads som Assistent i den kemiske Afdeling 30. September 1887. — Fremdeles har Hr. polyteknisk Kandidat J. G. Forchhammer været Assistent i den kemiske Afdeling fra 1. September 1885 til 31. August 1886, og Hr. polyteknisk Kandidat S. V. Poulsen ligesaa i den fysiologiske Afdeling fra 1. Maj 1885 til 31. December 1887.

Siden Aaret 1879 paalægges det enhver ny ansat Assistent at gjennemgaae et 3 Maaneders praktisk Kursus i Carlsbergs Bryggerier og tage Deel i de der forefaldende Arbejder, for derved at blive fortrolig med samtlige Bryggerioperationer og faae den praktiske Erfaring, hvortil de videnskabelige Undersøgelser i Laboratoriet skulle slutte sig.

Til Udvidelse af den fysiologiske Afdeling overlod Fondets Stifter i Sommeren 1884 Laboratoriet to Værelser, som ere beliggende oven over Afdelingens andre Lokaler, og lod dem paa sin Bekostning istandsætte og forsyne med de nødvendige Vand- og Gasledninger.

De bleve derefter monterede for Laboratoriets Regning og tagne i Brug i September s. A.

I Aaret 1884 bestemte Fondets Stifter endvidere, at et ham tilhørende Grundstykke paa 20000 Kvadr. Alen, beliggende ved Carlsbergvejen overfor Bryggeriet, skulde forbeholdes til, naar Laboratoriets Sparepenge engang kunde strække til, derpaa at opføre en ny Laboratoriumsbygning, som skulde træde i Stedet for den, som nu benyttes. Hans Ønske om at see et nyt og større Laboratorium afløse det ældre var imidlertid saa levende, at han i 1886 besluttede selv at ville bekoste Bygningen og at paabegynde Opførelsen af den i 1887. Efter den allerede i Efteraaret 1886, hvad alle Hovedpunkterne angik, færdigt liggende Plan skulde den have to Etager foruden Kjælder, 60 Al. Længde og 20 Al. Dybde, Varmeapparat o. s. v. i Kjælderen, kemisk Laboratorium i Stueetagen og en Deel af Kjælderen, fysiologisk Laboratorium, Bogværelse og en Direktionssal i Salsetagen. Han lod ogsaa derfor med Bekostning af omtrent 3000 Kr. i god Tid udføre et Kloakarbejde, men han opnaaede ikke at faae begyndt paa Bygningen, og efter hans Død har Opførelsen af den ikke kunnet finde Sted. Spørgsmaalet om et nyt Laboratorium staaer derfor atter paa samme Punkt som før 1886.

Til Instrumenter, Apparater og andet Inventarium af forskjellig Slags er i de sidste sex Regnskabsaar, 1. Oktober 1881—30. September 1887, tilsammen anvendt omtr. 16.300 Kr., og ligesaa til Bøger omtrent 1360 Kr. Den aarlige Udgift for Laboratoriet, deri indbefattet Lønninger til de ved Laboratoriet ansatte Mænd, Understøttelser til Studierejser og Udgivelse af „Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet“, har i de samme Regnskabsaar udgjort: i $18^{81}/_{82}$ 17575 Kr. 49 Øre, i $18^{82}/_{83}$ 18342 Kr. 60 Øre, i $18^{83}/_{84}$ 19840 Kr. 21 Øre, i $18^{84}/_{85}$ 24512 Kr. 6 Øre (heri indbefattet Udgiften for Monteringen af de ovennævnte nye Lokaler), i $18^{85}/_{86}$ 23177 Kr. 65 Øre, og i $18^{86}/_{87}$ 21646 Kr. 43 Øre.

Ved Udgangen af Regnskabsaaret $18^{86}/_{87}$ udgjorde Laboratoriets oplagte Sparepenge 68400 Kr.

Af de i det her omhandlede Tidsrum udgivne Hefter af „Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet“ er der ligesom af de tidligere uddelt omtrent 250 Exemplarer til Bibliotheker, Institutioner, Videnskabsmænd o. A. her hjemme og i Udlandet.

Medens den internationale Lægecongres afholdtes i Kjøbenhavn i August Maaned 1884, blev Laboratoriet besøgt af flere af Congressens fremragende Medlemmer, hvoriblandt Hr. L. Pasteur fra Paris. Baade før og efter den Tid have flere Videnskabsmænd og Bryggere fra Udlandet opholdt sig i kortere eller længere Tid ved Laboratoriet, for at gjøre sig nærmere bekjendte med de der anvendte Fremgangsmaader.

I November 1886 har „La société d'encouragement pour l'industrie nationale“ i Paris tilkjendt Hr. Dr. E. C. Hansen sin Guldmedaille som Anerkjendelse af hans fra Laboratoriet offentliggjorte Arbejder over Alkoholgjærsvampene og de derved opnaaede praktiske Resultater.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques.

Par

Emil Chr. Hansen.

II.

Les ascospores chez le genre Saccharomyces.

(Avec 3 Planches.)

Qu'avons-nous su jusqu'ici à ce sujet?

Dans le texte danois, p. 29—43, j'ai passé en revue, en les soumettant à un examen critique, les travaux qui ont été publiés sur cette question pendant les 15 dernières années. A côté d'un petit nombre d'observations bien faites, on y trouve des erreurs graves et des vices de méthode, des vues contradictoires et des assertions hasardées. Une étude attentive de cette série de travaux n'en est pas moins, sous plusieurs rapports, intéressante et instructive, mais je dois me borner, dans ce résumé, à mentionner les points principaux.

La première communication relative à l'existence de spores chez le genre Saccharomyces est due à M. J. de Seynes[1]). Il les observa en effet, en 1868, chez une espéce rapportée par lui au Mycoderma vini Desm.

A peu près à la même époque, M. Reess[2]) avait commencé à étudier les espèces du genre Saccharomyces. Pour reconnaître si les cellules de la levûre basse pouvaient développer une moisissure, il en sema sur des tranches de pommes de terre, de carottes, etc., qui

---

[1]) J. de Seynes, Sur le Mycoderma vini. (Comptes rendus, Tome LXVII, 1868, p. 105—109. Ann des sc. nat. Botanique, 5 série, X, 1869, p. 5—9.)

[2]) Reess, Zur Naturgeschichte der Bierhefe, Sacch. cerevisiæ Meyen. (Botan. Zeitung, XXVII Jahrg., 1869, p. 105—118.)
—, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870.

furent ensuite exposées sous une cloche maintenue humide. Contre son attente, il se produisit des spores dans l'intérieur de quelques cellules. A cause de la conformité que ces spores, sous certains rapports, ont avec celles des ascomycètes inférieurs, M. Reess les appelle ascospores et donne à la cellule mère le nom d'ascus. Lors de la germination des spores, il ne se développait que des cellules de levûre bourgeonnantes ordinaires.

Comme M. Reess a toujours travaillé avec des matériaux impurs, il est à prévoir qu'il n'a pu, sur plusieurs points, éviter de se tromper. Tel est, par ex., le cas pour les résultats qu'il croit avoir obtenus par la culture de la levûre basse, car tout prouve qu'il n'a pas observé d'ascospores chez cette forme de levûre, mais bien chez une ou plusieurs espèces de levûres spontanées. Ce qu'il communique au sujet d'un développement d'ascospores chez la levûre haute est tout à fait erroné, et il en est de même de sa remarque, que la production des ascospores serait favorisée par une basse température. A l'exception du Sacch. apiculatus, il décrit des ascospores chez toutes les espèces établies par lui, dans quelques cas, se sert de leurs dimensions comme caractère; mais une étude plus attentive montre qu'il n'existe pas dans la nature des limites telles que celles qu'indique M. Reess, observation qui s'applique en général aux caractères systématiques par lesquels il croit pouvoir différencier les espèces.

M. Engel[1]), dans son mémoire publié en 1872, communique une meilleure méthode pour produire le développement des spores. Les cellules de levûre sont semées sur la surface unie d'un bloc de plâtre, qu'on place ensuite dans un verre renfermant de l'eau afin que cette surface soit maintenue humide, après quoi on recouvre le vase avec une plaque de verre ou autrement. Le mémoire en question n'est du reste, en majeure partie, qu'une répétition dénuée de critique des résultats que M. Reess croyait avoir obtenus.

M. Engel dit avoir découvert chez le Sacch. apiculatus une nouvelle forme de fructification qui lui donnerait une certaine ressemblance avec le Protomyces macrosporus. Bien qu'il reconnaisse lui-même que ses recherches sur ce point n'ont pas été poursuivies jusqu'au bout, il n'hésite pas cependant, à cause de cette prétendue nouvelle forme de fructification, à faire de cette espèce le représentant d'un nouveau genre Carpozyma. J'ai déjà fait observer, dans un mémoire précédent[2]), que la communication de M. Engel repose sur une erreur, et puis maintenant ajouter qu'après avoir repris et varié de différentes manières ses expériences, je suis arrivé à ce résultat positif que le Sacch. apiculatus ne produit pas les organes de fructification décrits par M. Engel. Travaille-t-on sans beaucoup de soin, comme l'a fait M. Engel, on peut bien, de temps à autre, trouver

[1]) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

[2]) Emil Chr. Hansen, Ueber Saccharomyces apiculatus. (Hedwigia 1880, p. 75) et surtout: Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. (Résumé du compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, I. vol. Copenhague 1881 p. 173.)

dans les cultures sur le plâtre des corps qui ressemblent à la fructification de Protomyces qu'il a représentée, et leur apparition est aussi fréquente dans les cultures des autres espèces que dans celles du Sacch. apiculatus. Maintient-on au contraire les cultures parfaitement pures; ils cessent de s'y montrer. J'ai vainement essayé jusqu'ici de les classer; mais, d'après ce qui précède, il est certain qu'ils ne représentent pas une phase de développement du Sacch. apiculatus. Le nouveau genre établi par M. Engel ne saurait donc être reconnu.

M. Brefeld[1]) a attaqué l'interprétation donnée par M. Reess de la signification morphologique des spores des Saccharomyces. Ce genre est, suivant lui, voisin du Mucor racemosus. La cellule de levûre, avec ses spores endogènes, devient alors un petit sporange. Sous le nom d'asci, il ne comprend que des cellules qui non seulement produisent des spores dans leur intérieur, mais qui en outre se sont développées de la seconde génération asexuée issue d'un ascogon fécondé, et par suite la cellule de levûre ne peut être considérée comme un ascus. Ces objections, qui avaient quelque fondement à l'époque où il les a publiées, ont maintenant perdu de leur valeur, et quant à sa nouvelle interprétation, on peut en dire la même chose que de plusieurs des systèmes dont la morphologie compte un si grand nombre, qu'elle n'est ni meilleure ni plus mauvaise que l'ancienne. Il y a des raisons qui parlent en faveur de l'une et de l'autre, mais il n'y en a aucune qui soit décisive, et la question reste encore toujours pendante. Aussi nous en tiendrons-nous provisoirement, au point de vue de la morphologie, à l'interprétation de M. Reess, comme ayant la priorité de date.

Le travail de M. Reess a encore soulevé d'autres objections. C'est ainsi que M. Eidam[2]) assure que tant lui que plusieurs autres expérimentateurs ont toujours obtenu un résultat négatif en essayant de faire développer des ascospores des cellules de levûre, ce qui semblait impliquer que MM. Reess et de Seynes s'étaient peut-être trompés, et que les cellules de levûre ne pouvaient pas produire ces organes de fructification.

M. Brefeld[3]) s'est en partie exprimé de la même manière dans ses communications biologiques sur les ferments alcooliques. Suivant lui, les cellules de la levûre employée dans l'industrie (levûre haute et levûre basse des brasseries, et levûre des boulangers) ne peuvent développer des spores, et comme les cellules de la levûre du vin (levûre naturelle, levûre spontanée) jouissent à un très haut degré de cette propriété, il en conclut que la levûre de l'industrie l'a perdue à la suite d'une culture prolongée qui ne favorise que le bourgeonnement. Mais les recherches sur lesquelles M. Brefeld appuie cette

---

[1]) Brefeld, Mucor racemosus und Hefe. (Flora, 56 Jahrg. 1873, p. 385-399.)
[2]) Eidam, Der gegenwärtige Standpunkt der Mycologie, 1871, p. 30, zweite Auflage, p. 59—60.
[3]) Brefeld, Beobachtungen über die Biologie der Hefe. (Sitzungsber. der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin. 16 März 1875. Botan. Zeitung 1875 p. 401.

conclusion sont manquées, et la conclusion elle-même est par conséquent inexacte.

Les recherches que je poursuis depuis plusieurs années sur les ferments alcooliques m'ont donné la certitude que non seulement la „levûre spontanée“, mais aussi la levûre de l'industrie développe des ascospores. J'en ai, même avec facilité, obtenu un développement abondant non seulement avec la levûre haute (Sacch. cerevisiæ) des distilleries et des fabriques de levûre de boulanger de Copenhague, de la distillerie de Biesdorf, de celle de Helbing, à Wandsbek, et de la fabrique de levûre de Mautner, à Vienne, mais aussi avec la forte levûre haute type qui est cultivée depuis un temps immémorial dans les brasseries d'Edimbourg, et nous fournit ainsi un remarquable exemple d'une levûre de ce genre vraiment ancienne. La fermentation haute, dans les îles Britanniques, appartient en effet à la plus ancienne industrie de fermentation que nous connaissions, et, tandis que, dans les brasseries du continent, elle a été peu à peu remplacée par la fermentation basse, elle y a été jusque dans ces derniers temps exclusivement employée. J'ai également constaté que la levûre basse des brasseries peut développer des ascospores, quoique moins facilement que les levûres mentionnées plus haut. C'est donc un fait acquis que la levûre de l'industrie, aussi bien que la levûre spontanée, peut donner naissance à des ascospores. D'un autre côté, voilà près de trois ans que je cultive dans du moût des levûres du groupe Sacch. Pastorianus dans le laboratoire de Carlsberg, et, pendant ce temps, j'en ai produit des générations sans fin, sans qu'il m'ait jamais été possible de découvrir la moindre trace d'affaiblissement dans leur faculté de former ces organes de fructification, et cependant mon attention était spécialement fixée sur ce point.

Dans ses cultures d'ascospores M. Brefeld s'est servi d'une lame de verre porte-objet, procédé qui avant lui avait été employé par M. David[1]).

M. Müntz[2]) dit avoir observé que les cellules de levûre de bière qui étaient cultivées dans une dissolution de glucose, produisaient des ascospores quand on y faisait passer un courant d'oxygène. Dans le texte danois, p. 36, sont décrites quelques expériences que j'ai faites à cette occasion, et qui montrent qu'un traitement par l'oxygène poursuivi pendant 5 heures n'exerce sous ce rapport aucune influence.

Tandis que les auteurs précédents, malgré les divergences que leurs communications présentent sur plusieurs points, sont cependant tous d'accord pour regarder les ascospores comme des organes de fructification normaux, M. van Tieghem[3]) a proposé une interpréta-

---

1) David, Ueber Rothweingährungspilze. (Annalen der Oenologie, 4 B. 1874, p. 223).

2) Müntz, Recherches sur les fonctions des champignons. (Comptes rendus hebd. des séances de l'Acad. des Sciences 1875, T. 80, p. 178—181. D'après le „Botan. Jahresbericht.“ 3. Jahrgang. p. 171.

3) Ph. van Tieghem, Troisième Mémoire sur Les Mucorinées. (Extrait des ann. des sc. nat. Botanique, 6 série, IV, 1878, p. 9.)

tion toute nouvelle. Suivant lui, la formation des ascospores est due à un état maladif du protoplasme qui aurait pour cause une altération des cellules de levûre par des bactéries. J'ai soumis la question à une épreuve expérimentale sur laquelle je reviendrai plus loin; elle m'a clairement montré que l'opinion de M. van Tieghem est erronée.

Pour ce qui concerne les autres travaux relatifs aux ascospores des Saccharomyces, je me réfère en partie au texte danois, en partie à la liste qu'on trouvera ci-dessous de la littérature du sujet.[1])

Si nous demandons quels résultats certains ont donnés les travaux que nous venons de passer en revue, nous voyons qu'à proprement parler, ils se bornent aux renseignements qui sont surtout dus à M. Reess, à savoir que des espèces du genre Saccharomyces, sous certaines conditions encore imparfaitement connues, peuvent former des cellules endogènes, et que celles-ci, par une culture dans des liquides nourriciers bien appropriés, se développent en cellules végétatives bourgeonnantes.

C'est d'ailleurs un point qui est toujours fort débattu, sans qu'on aboutisse à une solution définitive dans un sens ou dans l'autre, car les méthodes exactes, qui seules auraient pu y conduire, manquaient.

Les recherches sur les ascospores sont en connexion étroite avec la question fondamentale de la délimitation des espèces du genre Sac-

---

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Bullet. de l'Acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg, T. XVII. 1873.)

Blankenhorn und Moritz, Unters. über den Einfluss der Temperatur auf die Gährung. (Annalen der Oenologie, 3 B. 1873, p. 11.)

Schumacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (Aus dem LXX. Bande der Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. in Wien. I. Abth. Juni-Heft. Jahrg. 1874.)

Brefeld, Ueber Gährung. II—III. (Landwirthschaftl. Jahrb. IV B. 1875, p. 405—433 und V B. 1876, p. 281—343.)

Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148 et 170.

Grawitz, Beiträge zur systemat. Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. (Virchow's-Archiv. 70 B. 1877, p. 546—598.)

Reess, Ueber den Soorpilz. (Sitzungsbericht der physikalisch-medicinischen Societät zu Erlangen. Sitzung vom 9 Juli 1877. Botan. Zeitung 1878, p. 201.)

Bedeutung der technischen Rohstofflehre (techn. Waarenkunde) als selbstständiger Disciplin und über deren Behandlung als Lehrgegenstand an techn. Hochschulen, von Dr. Jul. Wiesner, Prof. an der Wiener Universität. (Dingler's Polytechnisches Journal. 237 B. Jahrg. 1880, p. 407 und folg.)

Kern, Ueber eine Milchferment des Kaukasus. (Botan. Zeit. XL. 1882, p. 264 und Biolog. Centralblatt 1882, 1 Mai.)

charomyces, question qui est de la plus grande importance tant pour la technique de la fermentation que pour la physiologie. Pour les praticiens, elle a deux faces; peut-on soumettre à une culture méthodique ces différentes espèces dont on affirme la présence, et les obliger à nous donner des produits doués de propriétés autres et meilleures que celles que possèdent nos espèces actuelles? Ou bien: les levûres spontanées sont-elles une cause de trouble dans le mode d'exploitation suivi maintenant? Et comment alors nous défendre contre elles? Mais, dans tous les cas, c'est la même importante question: comment nous y prendre pour les atteindre et les soumettre à une expérimentation, et à quoi pouvons-nous les reconnaître!

Les savants qui, depuis la publication du travail de M. Reess, se sont livrés à des recherches physiologiques expérimentales sur les ferments alcooliques, ont bien vu, en général, qu'à eux aussi il se présentait de ces questions embarrassantes, mais ils les ont mises de côté comptant bien se tirer d'affaire sans y avoir égard. Chaque levûre de l'industrie a tout uniment été rangée sous la dénomination de Sacch. cerevisiæ. C'est tout au plus si l'on a fait une distinction entre la levûre haute et la levûre basse, mais sans s'inquiéter de savoir si l'une d'elles était pure de tout mélange avec l'autre, ou si la levûre cultivée renfermait des levûres spontanées, de sorte qu'en réalité on travaillait un peu au hasard et ne pouvait établir aucun contrôle. Expérimenter constamment sur des grandeurs inconnues, qui, finalement, sont cependant présentées comme connues, telle est donc la méthode assez peu scientifique qui a en général été suivie. On se consolait avec l'espoir que ces espèces importunes, qui peut-être étaient présentes, devaient se comporter de la même manière au point de vue physiologique, mais c'était compter sans son hôte. Dans mes derniers travaux, j'ai, par ex., établi qu'il y a quelques levûres et quelques cellules ressemblant à des levûres qui, en opposition avec toutes les autres, agissent seulement comme ferments alcooliques sans avoir la faculté de séparer l'invertine[1]). Et, dans mes prochains mémoires, je ferai voir par des exemples que, dans le groupe de Saccharomyces qui est doué des deux sortes d'activité fermentative, on trouve aussi des différences physiologiques très marquées.

Si l'on introduit dans un même liquide nourricier deux levûres alcooliques dont l'une énergique et l'autre faible, celle-ci, en général, aura bien le dessous dans la lutte qui s'établit entre elles, mais, de son côté, elle ralentira aussi dans une certaine mesure la multiplication de sa puissante rivale[2]). Si maintenant, comme c'est généralement le

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature (Hedwigia 1880, p. 75 et Résumé du compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 1er Vol. 1881 p. 174) et: Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière (Le même Compte-rendu 1er Vol. 1882 p. 215).

[2]) Voir mon mémoire: Sur le Sacch. apiculatus etc. p. 179.

cas, les deux levûres ont le même aspect, il s'ensuivra, dans l'état actuel des choses, que l'expérimentateur commettra une erreur en attribuant à l'une d'elles les résultats qui sont dus à la concurrence de deux espèces rivales. De pareilles erreurs se sont fréquemment produites et si, vérification faite, il se trouve qu'elles ne sont pas très grandes, c'est l'effet d'un heureux hasard et la méthode employée n'y est pour rien.

On a beaucoup parlé et écrit sur la dégénération de la levûre des brasseries; les revues étrangères y consacrent habituellement des articles signés par les spécialistes les plus éminents. Cette dégénération est attribuée à l'influence du malt, de l'eau et d'autres facteurs. Mais en examinant de plus près les considérations présentées en faveur de cette hypothèse, on voit que le tout se réduit à un exposé vague et obscur qui n'est appuyé par aucune recherche expérimentale exacte. En quoi consiste cette dégénération? D'où savons-nous que le Sacch. cerevisiæ peut dégénérer? La réponse est facile à donner: pour le moment, nous ne savons pas encore ce que c'est que le Sacch. cerevisiæ!

C'est seulement quand on saura s'il existe ou non des espèces et des races distinctes et que les caractères en auront été déterminés, qu'il sera possible d'assurer des points de départ certains aux recherches physiologiques, qui ont une égale importance pour la théorie et la pratique. C'est seulement alors qu'avec la perspective d'obtenir une solution satisfaisante des questions qui se posent sans cesse devant nous, on pourra entreprendre l'étude de l'activité des différentes espèces, des lois régissant les cas très compliqués qui se présentent lorsque ces espèces entrent en concurrence les unes avec les autres ou avec des organismes tout différents, tels que les bactéries, des rapports entre la levûre haute et la levûre basse, des conditions à remplir pour l'apparition des variétés, de l'activité physiologique de ces dernières et de leurs rapports avec les formes primitives.

Pendant qu'en 1878, je travaillais à mon mémoire sur les organismes qui peuvent se développer dans la bière et le moût de bière, j'avais la conscience des questions que je viens d'indiquer, et comprenais qu'il n'était pas possible d'aller plus loin dans la voie suivie par mes devanciers; c'est pourquoi, dans ma notice sur le genre Saccharomyces, je me suis surtout référé aux travaux déjà existants et, en rappelant combien nos connaissances à cet égard étaient incertaines, ai fait observer que les recherches, pour pouvoir réellement produire au delà de ce que MM. Reess et Pasteur avaient donné, devaient être entreprises à des points de vue tout autres qu'auparavant. Je soumis d'abord le Sacch. apiculatus, espèce qui se prête avec le plus de facilité à l'expérimentation, à une recherche portant sur différents points, et ce travail fut relativement aisé; mais les autres espèces me réservaient de très grandes difficultés. Bien que je n'aie cessé, pendant des années, de poursuivre la solution du problème, ce n'est qu'en 1881 que je réussis à la trouver et, après en avoir vérifié l'exactitude, j'en fis, l'année suivante, l'objet d'une courte communication

dans le „Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg“ Vol. 1, p. 205.

Les recherches dont il s'agit entrent ainsi dans de nouvelles voies, qui, je l'espère, conduiront à une réforme.

Je me propose, dans une série de mémoires, de traiter successivement à part chacun des éléments de la longue suite de recherches qu'exige cette étude. Dans ce qui suit, je m'occuperai principalement de l'influence de la température sur la formation des ascospores.

Méthodes.

Quiconque veut entreprendre des recherches expérimentales sur les ferments alcooliques, sera naturellement amené à faire une étude approfondie des „Études sur la bière“ de M. Pasteur; ce livre est en effet l'ouvrage principal sur cette matière.

Dans le quatrième chapitre, l'auteur traite de l'importante question des cultures à l'état de pureté et, parmi les formes sur lesquelles il expérimente, se trouve aussi un des organismes que M. Reess rapporte au genre Saccharomyces, à savoir le Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini) p. 109. Du vin, où il avait formé une membrane, il était semé dans du moût de bière, de là dans de l'eau de levûre sucrée et de nouveau enfin dans du moût de bière, M. Pasteur opérait comme d'habitude avec ses ballons connus à deux tubulures, avec un tube droit et court et un autre long et recourbé (voir sa Fig. 22), et les ensemencements se faisaient à l'aide d'un fil de platine passé préalablement dans une flamme, qu'il trempait dans la membrane et portait ensuite dans un des ballons, en ayant soin de ne le tenir ouvert qu'un instant. „De cette manière,“ dit M. Pasteur, „on éloigne du mycoderme toute trace de spores étrangères, particulièrement les germes du mycoderma aceti, compagnon habituel du mycoderma vini. Le mycoderma aceti se propage très difficilement sur les liquides sucrés neutres. Les jours suivants, des voiles de mycoderma vini s'étendent à la surface des liquides dans les ballons. Leur apparence est très pure. On vérifie au microscope l'absence complète d'un mélange de mycoderma aceti, de levûre lactique, etc.“ Telles sont les cultures pures de M. Pasteur.

Il y a ici deux points à considérer, à savoir comment il obtient ses cultures à l'état de pureté, et ensuite comment il les maintient à l'abri de toute infection du dehors pendant la durée des expériences. Relativement au premier point, nous avons vu qu'il cherche à atteindre son but en favorisant constamment, dans une série de cultures, l'organisme qu'il veut conserver, et en arrêtant en même temps le développement de celui ou de ceux qu'il veut éliminer. Dans l'expérience ci-dessus décrite, l'examen microscopique a montré qu'il n'y avait ni bactéries ni moisissures et que le voile ou la membrane ne se composait que de cellules ressemblant à des Saccharomyces. M. Pasteur

s'en tient là et regarde comme acquis que ces cellules appartiennent toutes à une seule espèce. Mais il n'a aucune certitude à cet égard. Il y a en effet plusieurs espèces de cellules qui, dans les conditions alimentaires mentionnées plus haut, peuvent former des membranes, et qui, à l'examen microscopique, ne peuvent être distinguées les unes des autres; la membrane peut même renfermer des cellules de levûres dont la nature est d'ailleurs de vivre à l'état de levûre de dépôt, et comme elles ont souvent la même forme et, en général, le même aspect que les espèces qui produisent des membranes, il n'est par suite pas possible de les découvrir par un simple examen microscopique. Par son procédé de culture, M. Pasteur a seulement pu écarter les organismes qui, dans les conditions alimentaires par lui choisies, n'étaient pas en état de soutenir une concurrence contre l'organisme favorisé, mais il y en a une foule d'autres (tous ceux qui demandent à peu près la même alimentation que cet organisme) qui peuvent vivre ensemble avec ce dernier sans qu'ils se gênent beaucoup mutuellement. Il est, en un mot, impossible d'établir une culture qui ne favorise qu'une seule des nombreuses espèces existantes. Ce procédé ne pourra donc être employé avec quelque certitude que dans les cas très rares où l'on aura affaire avec des espèces douées de caractères si distincts qu'il ne sera pas facile de les confondre avec d'autres, et qu'un contrôle deviendra par suite possible.

Mais supposons que M. Pasteur ait réellement réussi à obtenir une culture à l'état de pureté; nous arrivons alors au second côté de la question; comment la conserve-t-il? Ses ballons sont à cet égard d'un précieux secours. Relativement à leur emploi, nous ne pouvons mieux faire que de renvoyer aux descriptions détaillées qui se trouvent dans son ouvrage cité plus haut, p. 29 et suivantes. Ils sont surtout très utiles dans les cas où l'on doit cultiver pendant longtemps un microorganisme dans un liquide nourricier qu'il est nécessaire de souvent renouveler, ou lorsque, pour pouvoir exécuter une analyse chimique ou par d'autres motifs, il faut employer pour la culture de grandes quantités de liquide, et principalement lorsqu'on opère sur des ferments qui déterminent un grand dégagement d'air et une formation d'écume. Au laboratoire de Carlsberg, on les emploie dans des grandeurs variant de $^1/_8$ de litre à 1,25 lit. Ils peuvent naturellement être appropriés aux divers usages qu'on en fait.

Lorsque M. Pasteur parle d'une levûre pure ou qu'il se sert de la qualification „absolument pure“, il ne faut donc pas compendre par là qu'il s'agit d'une seule espèce de levûre, mais seulement que la soi-disant levûre pure est exempte de bactéries et de moisissures. Il ne dit lui-même rien de précis relativement à la limite de son procédé, et par suite on ne voit pas s'il l'a reconnue; mais ce que sa méthode a de défectueux apparaît surtout dans les parties du livre qui traitent de son „Dematium levûre“ (Sacch. Pastorianus), de sa „levûre caséeuse“ et de ses „levûres aérobies“.

Dans quelques endroits (par ex. p. 164 et 165), il dit sans détour que le Sacch. Pastorianus est une forme de développement d'une moisissure (Dematium) qu'on trouve en général sur les raisins; ailleurs (p. 170, 171 et 177), au contraire, il s'exprime en termes vagues et

l'on voit clairement qu'il n'est pas parvenu à trancher la question. Ce manque de clarté se manifeste aussi dans d'autres points de ses communications sur le Sacch. Pastorianus, par ex. p. 166, où il n'a pu décider si les cellules rondes et allongées observées par lui appartiennent réellement à la série du développement d'une même espèce.

Un autre point faible, ce sont également ses recherches sur la „levûre caséuse", p. 196. M. Pasteur dit avoir obtenu cette singulière levûre de la manière suivante: un liquide formé d'un mélange de moût de bière, d'eau saturée de bitartrate de potasse et d'alcool est porté à l'ébullition dans un de ses ballons à deux tubulures, refroidi, puis ensemencé avec de la levûre haute des distilleries et des brasseries, et, après l'ensemencement, le ballon est porté et maintenu à 50° dans un bain d'eau pendant une heure. Ce traitement, il l'appelle une méthode pour l'épuration des levûres, mais on ne voit pas comment l'idée lui en est venue. Considérons maintenant le résultat qu'il a obtenu. Au bout de quelques jours, la fermentation s'est déclarée, plusieurs cellules ont commencé à se propager et il s'est développé une levûre très curieuse qu'il a appelée „levûre caséuse" à cause du précipité caséeux qu'elle forme.

Ce que nous désirerions maintenant de savoir, c'est si cette nouvelle levûre provient d'une transformation des cellules de levûre haute ensemencées, ou si, au contraire, celles-ci ont été tuées par le traitement qu'on leur a fait subir, et si c'est une tout autre espèce de levûre qui a survécu, et, dans ce cas, une espèce qui, au commencement de l'expérience, se trouvait mêlée avec la levûre haute dont on s'est servi. Les recherches de M. Pasteur ne résolvent pas la question. Il semble cependant plutôt porté à admettre qu'on a affaire ici à une espèce étrangère qui, à l'origine, était mêlée avec la levûre haute. Ceux qui pourraient désirer de plus amples renseignements à ce sujet les trouveront dans un de mes prochains mémoires.

La partie du livre de M. Pasteur qui traite des „levûres aérobies", p. 201 et suivantes, souffre de manques analogues à ceux que nous venons de mentionner, et c'est pourquoi ce serait seulement une répétition fatigante que de les relever ici en détail.

La voie par laquelle on peut en tout état de cause obtenir une culture à l'état de pureté, quelles que soient d'ailleurs les propriétés physiologiques et morphologiques des microorganismes sur lesquels on opère, s'offre en réalité d'elle-même et n'est autre que l'ensemencement d'une seule cellule dans un liquide nourricier préalablement stérilisé, dé manière qu'aucun organisme étranger ne puisse y pénétrer pendant la culture. Il serait fort difficile de dire qui a le premier énoncé cette idée en soi si simple et cependant si féconde. Plusieurs savants se sont efforcés, dans ces dernières années, de résoudre le problème chacun à sa manière.

M. Pasteur, dans son livre p. 193, indique le procédé suivant. Une portion de la levûre avec laquelle on opère est desséchée et puis réduite en fine poussière. On fait alors tomber d'une hauteur convenable un nuage de cette poussière, et ouvre en même temps quelques ballons vides d'air et renfermant un liquide nourricier stérilisé qui sont placés au-dessous (ces ballons sont décrits dans le 1er vol.

de ce Compte-rendu, p. 198). Si les circonstances sont favorables, il pourra arriver que des cellules de levûre vivantes pénètrent isolément dans quelques-uns des ballons — une dans chaque — et y fondent par suite de véritables cultures à l'état de pureté. M. Pasteur a été amené à cet ordre d'idées par la considération que chaque cellule, dans une portion de levûre appartenant à une seule et même espèce, et, par conséquent aussi, chaque cellule dans une colonie développée d'une seule cellule mère, devait avoir ses particularités individuelles, et qu'en cultivant chaque cellule à part, on pourrait obtenir un nombre égal de levûres d'espèce différente, chacune avec une cellule comme point de départ. D'après cette manière de voir, une petite portion de levûre doit par conséquent renfermer un nombre énorme de variétés et la possibilité d'un nombre plus grand encore. M. Pasteur n'avait pas cependant des caractères pour distinguer les unes des autres les levûres qui naissaient dans les ballons.

Comme on pouvait s'y attendre, son expérience ne lui a donné aucun résultat positif, et il semble résulter de son langage qu'il s'est borné à un essai provisoire. Cet essai n'a pas non plus été renouvelé ni par lui ni par d'autres.

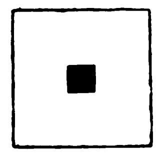
Après avoir essayé de nous rendre compte des méthodes qu'a employées M. Pasteur pour préparer des cultures de Saccharomyces à l'état de pureté, nous devons rappeler qu'il y a sept ans que son célèbre ouvrage a paru; s'il l'avait écrit maintenant, il l'aurait certainement modifié sur plusieurs points.

On voit par ce qui précède que ma tâche devait être: d'abord de perfectionner la méthode de manière à pouvoir obtenir des cultures provenant chacune d'une seule cellule, et ensuite de rechercher si ces cultures à l'état de pureté ont des caractères constants, et, dans ce cas, quels sont ces caractères.

Dans un ballon Pasteur à deux tubulures renfermant de l'eau qui avait été portée à l'ébullition et puis refroidie, j'ai introduit une petite portion de la levûre dont je désirais obtenir une culture à l'état de pureté. Dans des cultures préliminaires, j'avais constamment pris soin non seulement qu'elle se composât de cellules jeunes et vigoureuses, mais aussi, autant que possible, que les cellules de l'espèce à isoler y fussent en grande majorité. Après avoir secoué assez fortement le ballon pour répartir les cellules uniformément dans l'eau, j'en ai pris des échantillons afin de déterminer par une numération avec l'hématimètre le nombre des cellules contenues dans 1 centimètre cube du mélange, et calculé ensuite combien il fallait ajouter d'eau pour que 1 c. c. du mélange définitif contînt, par ex., 0,5 de cellule. Par conséquent si, dans une série de ballons renfermant un liquide nourricier stérilisé, on sème dans chacun 1 c. c., il n'y en aura que la moitié qui recevront chacun une cellule. Ce procédé m'a donné de bons résultats. Il a cependant ses inconvénients; on n'a notamment aucune certitude que le ballon avec le mélange définitif renferme réellement le nombre de cellules donné par le calcul; il peut

même arriver qu'il ne s'y trouve pas une seule cellule, comme aussi qu'il en contienne plus qu'il ne devrait. La raison en est qu'il est très difficile d'obtenir une égale répartition des cellules dans les mélanges fortement dilués avec lesquels on finit par opérer, et la difficulté est d'autant plus grande que le nombre des cellules est plus petit par rapport à la quantité d'eau où elles se trouvent.

Pour éviter les dilutions, qui en outre prennent beaucoup de temps, on peut employer un autre procédé. Au milieu d'une lame de verre couvre-objet (Fig. 1), on grave un carré de 4 millim. de côté, par ex., et le subdivise en nombreux petits carrés d'une grandeur telle qu'on puisse embrasser l'un d'eux à l'aide de l'objectif dont il faut se servir pour pouvoir distinguer avec certitude une petite cellule de levûre. Les dimensions du grand carré sont déterminées par la condition qu'une petite goutte d'eau contenant des cellules de levûre doit pouvoir être placée en dedans de son périmètre, et, comme on se propose de compter ces dernières, il est bon que le carré soit aussi petit que possible, la numération se faisant d'autant plus vite qu'il est plus petit. Mais l'essentiel est de bien veiller à ce que la goutte ne dépasse en aucun point les limites du carré, car ce serait la même chose que de mettre la goutte sur une lame de verre ordinaire, et il n'y aurait par conséquent plus de contrôle. Lorsque la goutte est en place, elle ne doit pas être trop bombée, afin qu'on puisse voir avec certitude tout ce qu'elle contient. Les petits carrés servent de points de repère pour la numération. La différence entre cet appareil de numération et celui de Hayem conciste en ceci, qu'avec ce dernier on peut seulement fractionner la goutte, mais non déterminer par une numération directe ce que la goutte entière contient, tandis que cela devient possible avec ma lame de verre. Pour empêcher que l'eau ne s'évapore et que les cellules ne se dessèchent, il faut relier la lame avec sa goutte à une chambre humide. La mettre comme d'habitude sur un porte-objet ne peut se faire, car la goutte sortirait alors de ses limites. Avec les microscopes ordinaires, on se sert de la chambre humide de Bøttcher, dont la Fig. 2 donne une coupe verticale; *a* est la lame de verre avec sa goutte *b*, tournée en bas; *c*, la chambre et *d*, la couche d'eau qui empêche l'évaporation. En employant un microscope renversé de Nachet, on peut se servir de ma chambre humide, et la goutte est alors tournée en haut[1]). Dans un ballon renfermant de l'eau stérilisée, on introduit un peu de la levûre qui doit faire l'objet de l'expérience, et, après l'avoir secoué pour répartir uni-


Fig. 1.

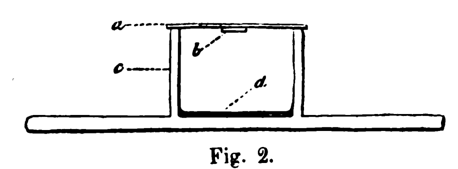


Fig. 2.

1) Emil Chr. Hansen, Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques (Résumé du compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 1er Vol. 1881 p. 184).

formément les cellules, on en enlève un petite goutte avec une mince tige de verre ou un fil de platine et la porte dans le grand carré gravé sur la lame de verre. Celle-ci est fixée à la chambre humide et l'on procède alors à la numération. Si la goutte est trop riche en cellules pour que la numération soit possible, il faut naturellement préparer un nouveau mélange plus fortement dilué; mais, avec un peu d'habitude, on pourra facilement éviter ce double travail. Le plus sûr est d'effectuer deux numérations et, si elles donnent des résultats concordants, on porte une goutte semblable à celle qui a servi pour la numération dans un ballon qui contient une certaine quantité préalablement pesée d'eau stérilisée. Le liquide qui doit servir à l'ensemencement est alors prêt et l'on sait qu'il contient, du moins à très peu de chose près, le nombre de cellules donné par le calcul.

La page 54 du texte danois, où la portée de la méthode est examinée, fait voir que, d'après le résultat des expériences, il y a seulement une certaine probabilité que quelques-uns des ballons ensemencés ont reçu chacun une cellule vivante. Il s'agit donc de trouver un caractère à l'aide duquel on puisse distinguer ces derniers des autres ballons infectés, et ce caractère nous est fourni par le nombre des taches de levûre qui se sont formées dans chacun ballon. Vu l'importance de cette observation pour l'analyse qui nous occupe, je l'ai déjà, l'année dernière, mentionnée dans ce Compte-rendu.

A partir du moment où un développement reconnaissable à l'œil nu se montre dans les ballons ensemencés, on observe assez facilement que, dans quelques-uns, il y a plusieurs taches de levûre, tandis que, dans tous les autres, il ne s'en trouve qu'une seule. Dans cette première période, elles apparaissent distinctement dans le liquide nourricier (dans ce cas, du moût de bière) encore clair. Suivant qu'on les regarde à la lumière transmise ou réfléchie, elles se présentent comme des taches sombres ou blanches qui ne nagent jamais dans le liquide, mais adhèrent toujours aux parois. Lorsque les ballons, sans être secoués, restent exposés, à la température ordinaire d'un appartement, on peut, au bout de quelques jours, observer ces taches et constater si le nombre en augmente ou non. Elles deviennent de plus en plus grandes, le liquide se sature peu à peu d'acide carbonique, de petites îles d'écume commencent à apparaître à la surface, la fermentation se déclare et le trouble et l'agitation qui en résultent dans le liquide mettent fin à l'examen macroscopique. Nous prenons alors les ballons qui, pendant toute la durée des observations, n'ont montré chacun qu'une seule tache de levûre; ce sont ceux qui renferment nos cultures à l'état de pureté, provenant chacune d'une seule cellule, ou, ce qui revient au même, d'une colonie de cellules unies entre elles et formant un tout. La preuve de l'exactitude de ma conclusion, qu'une seule tache dans un ballon ne peut provenir que d'une seule cellule est indirecte. En effet, si l'on suppose que, dans un de nos ballons avec du moût de bière, on introduise deux ou plusieurs cellules de levûre vigoureuses et isolées les unes des autres, ces cellules, pendant que le ballon, comme l'expérience l'exige, est fortement secoué pour que le liquide d'ensemencement se mélange bien avec le moût, se

sépareront en général encore davantage, et, si elles viennent à se propager, chacune d'elles formera son centre de végétation à part. Lorsque le liquide est rentré en repos, elles tombent en effet au fond et il n'est guère probable qu'elles aillent se fixer au même point. Si la végétation, dans un ballon renfermant une tache de levûre, se fixe à la paroi inclinée du ballon, et non au fond, c'est un nouveau signe qu'il n'a, à l'origine, reçu qu'une cellule, et les ballons de cette espèce sont précisément nombreux. Par conséquent, tandis qu'un centre de végétation dans un ballon signifie qu'il y a été semé une cellule vivante, on ne peut dire réciproquement que plusieurs centres de végétation soient en général dus à l'ensemencement de plusieurs cellules. Il n'est pas rare qu'un ballon qui n'a reçu qu'une cellule présente bientôt plusieurs centres de végétation. Survient-il en effet dans le liquide une agitation, même assez faible, après que cette cellule a par bourgeonnement formé une colonie, les cellules nouvellement nées se sépareront facilement pour fonder chacune leur centre de végétation. Il suit de là que, dans nos expériences, il y a eu d'ordinaire plus de cultures à l'état de pureté que nous n'en avons constaté.

Lorsque, dans mes recherches sur le genre Saccharomyces, je me sers du mot „espèce“, j'entends par là une végétation que j'ai cultivée de différentes manières pendant plus d'une année, et qui, aussi longtemps que je l'ai observée, a toujours conservé certains caractères déterminés par lesquels elle pouvait être distinguée des espèces voisines. Quant à la question de savoir ce qu'il faut comprendre par species, variété, race ou modification, je ne l'aborderai pas dans ce mémoire et ne la traiterai que plus tard quand j'aurai terminé ces recherches. Je laisserai aussi en suspens, pour le moment, cette autre question, si les cellules végétatives, avec leurs ascospores, sont des organismes qui ont terminé leur évolution, ou seulement des formes d'un cycle plus étendu.

Peu après avoir commencé à employer la méthode décrite plus haut, je l'ai soumise à une épreuve facile en l'appliquant au Sacch. apiculatus, espèce caractérisée par sa forme bien définie et ses particularités physiologiques. Des cellules de cette espèce furent mélangées dans l'eau d'ensemencement avec des cellules de levûre ordinaire des brasseries, après quoi on les sema de la manière que j'ai décrite dans une série de ballons renfermant du moût de bière stérilisé. L'expérience terminée, quelques-uns des ballons ensemencés ne renfermaient que des cellules ovales semblables à celles de la levûre des brasseries, et les autres, que des cellules en forme de citron, appartenant au Sacch. apiculatus.

Relativement à plusieurs détails tant ici qu'ailleurs, je dois me référer au texte danois.

Dans son mémoire sur les méthodes de recherche des microorganismes [1]), M. Koch relève fortement l'importance qu'un substratum solide a pour leur culture. Comme tel, il emploie soit des tranches

[1]) Robert Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. I B. 1881. p. 18).

de pommes de terre, soit un mélange de gélatine avec un liquide nourricier stérilisé par l'ébullition. Pendant une visite que je fis, en 1882, dans son laboratoire, j'eus l'occasion de voir que son procédé pouvait donner de bons résultats en ce qui concerne l'étude des bactéries. C'est pourquoi j'essayai, à mon retour, de l'appliquer aux Saccharomyces. Pour m'assurer si, par ce moyen, on pouvait réellement en obtenir des cultures à l'état de pureté, je choisis deux espèces faciles à distinguer au microscope, à savoir le Sacch. apiculatus et le Sacch. cerevisiæ, et les portai dans un mélange de gélatine et de moût de bière maintenu liquide dans un bain d'eau chauffé à 30—35° C. Après avoir été secoué, pour que les cellules s'y répartissent autant que possible également, le mélange fut versé sur une plaque de verre préalablement passée à travers une flamme, et celle-ci, placée ensuite sous une cloche humide. Au bout de 2—3 jours, on put voir distinctement quelques petites taches grisâtres, et le 8e jour il s'était formé une touffe assez notable de moisissures. Après examen de la plaque, je constatai que le Penicillium glaucum était le seul organisme étranger qui se fût glissé dans la culture. La plaque contenait 70 taches de levûre dont la moitié environ appartenant à chaque espèce. Une seule tache (par conséquent 1,4 % du nombre total) renfermait les deux espèces de levûre, et le Sacch. cerevisiæ formait la couche supérieure, tandis que le Sacch. apiculatus était refoulé dans la couche inférieure, ce qui s'explique facilement, puisqu'il est le plus faible des deux. Lorsque, à l'aide du microscope, on veut reconnaître si une pareille tache est pure ou non, il ne faut jamais se contenter d'en examiner la couche supérieure, car si elle est formée par plusieurs organismes, on ne trouvera en général que le plus fort d'entre eux, comme tous les autres plus faibles ont été repoussés dans les couches inférieures. En répétant mon expérience avec le Sacch. apiculatus et une des espèces qui peuvent être rapportées au Sacch. Pastorianus, j'ai en somme obtenu le même résultat. Autant que je sache, ni M. Koch ni personne autre n'ont soumis la méthode à un contrôle de ce genre.

On voit donc par là que, dans la plupart des cas, les cellules de levûre ont été séparées et ensemencées chacune à part, et que les taches qu'elles ont formées renferment presque toujours des cultures à l'état de pureté. La question est maintenant de savoir comment on peut éviter les végétations impures qui se produisent comme des exceptions menaçantes. L'examen microscopique n'est applicable que dans les cas où l'on a affaire avec des formes caractéristiques telles que celles dont je me suis servi, mais, vis-à-vis du grand groupe des espèces à cellules ovales et en forme de boudin, on n'arrive à rien par cette voie. De même que dans mes expériences antérieures pour préparer des cultures à l'état de pureté, on est d'autant moins exposé à commettre des erreurs que l'espèce recherchée est plus prédominante dans la levûre qu'on emploie. Le résultat est naturellement le même en répétant l'expérience de manière que la première devienne le point de départ de la deuxième, la deuxième, de la troisième, etc. Cependant cette méthode ne donne pas une certitude pleinement satisfai-

sante; on opère toujours un peu à l'aventure et ne possède aucun moyen de contrôle qui puisse indiquer si l'on a ou non atteint le but.

Pour obtenir des cultures à l'état de pureté à l'aide de la gélatine, il faut que les cellules soient suffisamment isolées les unes des autres, de manière que les colonies développées par bourgeonnement ne puissent se fusionner. Le nombre des cellules doit donc être assez petit par rapport à la masse de la gélatine (v. le texte danois p. 59—60).

La seule voie par laquelle nous puissions obtenir la certitude absolue qu'une tache est formée d'une ou de plusieurs cellules, est d'entreprendre une culture dans une chambre humide. J'ai fait l'expérience de la manière suivante: quelques cellules de levûre ayant, comme à l'ordinaire, été bien réparties dans de la gélatine nutritive liquide, je répandis une couche assez mince du mélange sur une lame de verre couvre-objet, qui fut ensuite fixée à l'une des chambres mentionnées p. 24 avec la couche de gélatine tournée en bas. Le couvre-objet, la chambre, en un mot tous les appareils dont je me servais, avaient préalablement été passés à travers une flamme. La gélatine une fois solidifiée, je cherchai, par exemple, deux cellules qui eussent un aspect vigoureux et dont la place dans la préparation fût favorable au développement de colonies séparées, et, après en avoir noté la position, je plaçai la chambre dans un thermostat chauffé à 25° C. Au bout de quelques heures, le bourgeonnement était en pleine activité. En soumettant, à de courts intervalles, la préparation à un examen microscopique, je pus suivre pas à pas le développement et constater sûrement si les colonies qui se développaient successivement provenaient d'une ou de plusieurs cellules. Au bout de 24 heures, les taches pouvaient se distinguer à l'œil nu; elles étaient rondes et gris clair; 12 heures plus tard, elles étaient aussi grandes que de petites têtes d'épingles. Dans ces dernières phases, l'examen est très facile et conciste simplement à voir si, dans le voisinage des colonies, il s'en forme d'autres pouvant se fusionner avec celles qui ont déjà été observées. Comme notre gélatine forme un fond solide où les cellules semées sont emprisonnées, peu importe qu'il y en ait plusieurs, pourvu seulement que quelques-unes d'entre elles soient suffisamment isolées pour pouvoir chacune fonder leur colonie sans qu'une fusion avec d'autres puisse survenir. Cette fusion aurait au contraire lieu si l'on se servait d'un liquide pour les cultures; le but ne saurait alors être atteint qu'en semant une seule cellule, et par suite le problème serait rendu beaucoup plus difficile. La méthode de M. Koch, avec la modification que nous venons de décrire, fournit un moyen parfaitement sûr d'obtenir une culture à l'état de pureté. Après que les taches ainsi observées étaient devenues plus distinctes, on prenait dans chacune d'elles, avec un fil de platine préalablement passé à travers une flamme, quelques cellules qu'on introduisait rapidement dans des ballons renfermant du moût de bière stérilisé.

Dans ces expériences avec la gélatine, l'incertitude ne survient qu'au moment où la lame de verre couvre-objet est enlevée de la chambre humide et où les cellules sont introduites dans les ballons,

car une infection des organismes de l'air est alors possible. Mais ce danger n'est guère à craindre si l'on opère rapidement dans une pièce propre et un air tranquille. C'est ce que montrent les recherches décrites dans le texte danois, p. 62.

Dans mes recherches sur les ferments alcooliques, j'ai traité un assez grand nombre d'espèces. J'en ai puisé les matériaux pour la plus grande part dans le voisinage du laboratoire, dans les jardins attenants, dans les brasseries et les distilleries de Copenhague; mais j'en ai aussi reçu beaucoup de l'étranger, et en ai rapporté moi-même encore davantage d'un voyage dans les Vosges, où je passai le temps des vendanges pour étudier la fermentation du vin. Comme procédé à la fois bon et très commode pour conserver en voyage des échantillons de levûre, je puis recommander le suivant: la levûre en question est versée sur un petit morceau de papier brouillard, qui est ensuite plié comme deux feuillets d'un livre de manière qu'elle forme entre eux une couche très mince. A l'aide d'un autre morceau du même papier on absorbe autant que possible la partie liquide, et la préparation est ensuite mise dans une double enveloppe, également de papier brouillard. Ce papier doit, dans tous les cas, être passé à travers une flamme avant qu'on s'en serve. La préparation ainsi bien empaquetée reste pendant une semaine, à la température ordinaire d'un appartement, exposée à l'action de l'air, après quoi on ôte l'enveloppe extérieure pour éloigner les poussières que l'air y a déposées, et la levûre, qui est alors presque sèche, peut dans cet état être gardée plusieurs mois dans un tiroir sans que les cellules meurent. Si, comme il arrive souvent en voyage, on n'a pas le temps de laisser sécher la préparation dans une chambre, il n'y a aucun risque à la mettre tout de suite dans sa malle, surtout si l'on a d'abord eu soin d'en exprimer autant que possible l'humidité avec du papier brouillard. A l'aide de ce procédé, on peut, à peu de frais et sans beaucoup de peine, expédier au loin des échantillons de levûre dans une enveloppe de lettre ordinaire. Une grande partie des matériaux que j'ai employés pour mes études m'ont été envoyés de cette manière au laboratoire.

Pour conserver pendant longtemps de pareils échantillons, j'ai également, avec succès, employé un liquide stérilisé qui se composait de moût de bière ordinaire, additionné de 10 vol. % d'alcool et d'un peu d'eau saturée de bitartrate de potasse. Comme les cellules de levûre qu'on y met provoquent régulièrement une légère fermentation, il faut que les flacons qui renferment le mélange ne soient remplis qu'à moitié. Une qualité essentielle de ce liquide, c'est qu'on n'est pas incommodé par une fermentation un peu forte; aussi peut-on boucher les flacons aussitôt après y avoir introduit la levûre sans qu'une explosion soit à craindre. Il a par là un avantage sur les dissolutions de saccharose, qui du reste sont aussi propres à conserver pendant longtemps des levûres.

Par le premier de ces procédés, les cellules ont souvent conservé leur vigueur pendant 20 mois, et il est possible que quelques espèces puissent vivre encore plus longtemps dans ces conditions. Des cellules jeunes et vigoureuses se conservent d'ordinaire plus longtemps que des

cellules vieilles et faibles de la même espèce. Dans aucun de mes échantillons, les cellules ne sont mortes avant l'expiration des 5 premiers mois. Si, à l'origine, un des échantillons renfermait plusieurs espèces, et que l'une d'elles y fût prédominante, celle-ci continuait aussi généralement à l'être dans la végétation qui se produisait, lorsque la préparation avait été semée pendant les 2—3 premiers mois dans un liquide nourricier. Tardait-on au contraire plus longtemps, il n'était pas rare que les cellules qui prenaient naissance fussent, soit exclusivement soit en majeure partie, d'une espèce tout autre que celle qu'on avait attendue, et par conséquent d'une espèce qui, au début de l'expérience, constituait un élément secondaire de la levûre séchée. La raison en est que les différentes espèces ne supportent pas également le séchage; les unes s'affaiblissent plus que d'autres, et il y a aussi une différence quant au temps pendant lequel elles peuvent vivre après avoir été séchées comme je l'ai dit.

Les cellules de levûre se maintiennent aussi bien dans le liquide nourricier alcoolique et acide mentionné plus haut que dans les préparations avec du papier brouillard. Que, dans ces conditions, les diverses espèces se comportent aussi entre elles d'une manière différente, c'est fort probable; mais je ne m'en suis pas assuré expérimentalement.

Les cultures décrites plus loin, que j'ai entreprises pour amener des cellules de levûre à développer des ascospores, ont, sauf indication contraire, toutes été pratiquées à l'aide des blocs de plâtre mentionnés p. 14 et avec des cellules jeunes et vigoureuses. L'ensemencement était préparé de la manière suivante: après que les cellules choisies avaient été cultivées pendant quelque temps dans du moût de bière (env. 14 % Ball.) à la température ordinaire d'un appartement, on semait un peu de levûre jeune dans un autre moût de la même qualité que le précédent, et la cultivait pendant 24 heures à 26—27° C. Les cellules ainsi obtenues étaient semées sur les blocs de plâtre, et lorsque ceux-ci s'étaient saturés d'humidité, ce qu'indiquaient leurs surfaces devenues un peu brillantes, on les exposait dans un thermostat à des températures convenables. Mon but était de me rendre compte de l'influence de la température sur la formation des ascospores, et ensuite de constater si, sous ce rapport, les espèces se comportaient ou non de la même manière, et, s'il y avait des différences, de les déterminer. Je devais ainsi, pour chacune de mes cultures à l'état de pureté mentionnées plus haut, rechercher à quelles températures le développement des ascospores cessait de se produire, par conséquent trouver les températures limites, puis déterminer la température optimum et enfin, pour compléter la courbe, entreprendre des recherches sur un nombre suffisant de températures intermédiaires. Pour obtenir un point de repère aussi sûr que possible, j'ai, pour mes déterminations, choisi le moment où, dans mes cultures, il est possible, pour la première fois, de découvrir des

rudiments certains. Ce que j'entends par là est représenté sur la Pl. III, Fig. 1 et 6 c. Il semble au premier abord qu'il eût mieux valu prendre pour point de repère le moment où la spore mûre était développée; mais il n'est guère possible de déterminer ce moment avec certitude, ni en général de voir si une spore est mûre ou non. Le moment que j'ai choisi ne présente pas de telles difficultés.

Les ascospores se développent également lorsque les cellules de levûre sont à la surface d'une couche de gélatine solide stérilisée, qui, tant que dure l'expérience, est maintenue humide. Il est commode de se servir pour cela de lames de verre porte-objet, sur lesquelles on répand la gélatine liquide en couche pas trop mince; peu importe qu'elle soit mélangée ou non avec un liquide nourricier, car, dans les deux cas, j'ai obtenu une riche production d'ascospores. On peut, en les disposant dans un cadre, placer un assez grand nombre de ces lames de verre sous la même cloche. C'est un moyen relativement rapide et commode pour entreprendre à la fois une nombreuse série d'expériences.

J'ajouterai enfin qu'en cultivant quelques espèces dans de l'eau de levûre que j'aérais de temps à autre, j'ai aussi obtenu des ascospores.

Expériences.

Les six formes avec lesquelles ont été exécutées les expériences suivantes peuvent être rapportées à trois anciennes espèces: le Sacch. cerevisiæ, le Sacch. Pastorianus et le Sacch. ellipsoideus. Je les désignerai provisoirement ainsi:

Sacch. cerevisiæ I.

Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III

Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II.

Leurs cultures à l'état de pureté ont été obtenues à l'aide des méthodes exposées plus haut.

D'après l'ancien schéma, on pourrait bien, avec ces six formes, établir tout de suite trois ou peut-être quatre espèces distinctes, et alors peu importeraient celles à qui on appliquerait les noms de M. Reess. De chacune des espèces ci-dessus mentionnées (je les appellerai de ce nom pour abréger, mais sans préjuger les résultats des recherches), il peut en effet, par un traitement convenable, se développer des formes qui se laissent rapporter à toutes les species productrices d'ascospores qui figurent dans la classification de M. Reess. Les caractères indiqués par M. Pasteur ne sont pas non plus suffisants.

Les groupements qui précèdent signifient seulement que les levûres désignées sous le même nom spécifique peuvent être rapportées à l'espèce de même nom chez M. Reess, mais il ne s'ensuit nullement que les espèces rapportées au même groupe aient la même origine et dérivent de la même racine. Je me réfère de nouveau ici à mes remarques, p. 26, sur les species, les variétés et les modifications.

Mes mémoires ultérieurs traiteront successivement d'un plus grand nombre d'espèces, et les recherches nécessaires une fois termi-

nées, j'indiquerai les limites ainsi trouvées des species existantes et donnerai à ces dernières des noms systématiques.

Dans ce qui suit, les six espèces sont examinées dans l'ordre où je les ai nommées; les figures correspondantes sur les planches sont également disposées dans le même ordre.

Sacch. cerevisiæ I.

Cette espèce constituait la principale partie d'une levûre haute que je reçus, il y a quelques années, d'une brasserie d'Edimbourg, et plus tard aussi d'une brasserie de Londres. C'est une forme vigoureuse de levûre haute. Sur la planche III Fig. 1, sont représentés des exemples de cellules avec des ascospores. Celles-ci, comme chez tous les Saccharomyces, sont grisâtres aussi bien à la lumière transmise que réfléchie et plus ou moins sphériques. La grandeur en varie de $2^1/_2$ à 6 micromillim. Les points extrêmes sont cependant rares. On en trouve en général 1—4 dans chaque cellule mère, et ce n'est que tout exceptionnellement que j'en ai observé 5 (voir Fig. 1 b). Les parois des spores y sont ordinairement plus distinctes que chez les espèces suivantes. Les spores de ces dernières ont certainement aussi un pouvoir réfringent plus grand que celles de l'espèce dont il s'agit.

Comme chez toutes les espèces, c'est chose fort ordinaire que les ascospores d'une même cellule mère ont des grandeurs différentes. J'ai également souvent observé que la même cellule mére a à la fois développé des ascospores et poussé un bourgeon. Les figures de quelques-unes des espèces suivantes montrent même la cas où non seulement la cellule mère, mais aussi le bourgeon, a développé des ascospores. Le groupement des ascospores est le même chez toutes les espèces, et on trouvera indiqués sur les figures plusieurs exemples des modifications qui peuvent s'y produire.

La Fig. 1 c représente des cellules avec des ascospores non développées, c'est-à-dire dans la phase qui, nous l'avons dit plus haut, a été employée pour constater le temps que demande le développement des ascospores, lorsque les cellules végétatives sont, dans les conditions décrites, soumises à l'influence d'une température déterminée. La Fig. 1 a est une forme particulière de développement qui est fréquente. Les cellules sont divisées ici par des cloisons en plusieurs parties qui peuvent chacune pousser des bourgeons. J'ai, dans mes notes, désigné ce développement sous le nom de formation cloisonnée, et je l'appellerai de même chez les autres espèces où je l'ai observé. Quant à dire comment il se produit et quelle en est la signification, c'est une question dont mes autres travaux ne m'ont pas encore laissé le temps d'entreprendre l'étude. Il est probable que quelques-uns de mes devanciers ont aussi observé ces formations, mais les ont confondues avec la production proprement dite des ascospores.

Le tableau ci-dessous indique avec quels intervalles se produit le développement des ascospores, lorsque les cellules végétatives sont soumises au traitement mentionné p. 30, traitement qui a été le même pour le Sacch. cerevisiæ I que pour les cinq espèces suivantes.

A $37^1/_2{}^0$ C. aucun développement d'ascospores.
- 36-37^0 C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 29 heures.
- 35^0 C. .... 25 —
- $33^1/_2{}^0$ C. .... 23 —
- 30^0 C. .... 20 —
- 25^0 C. .... 23 —
- 23^0 C. .... 27 —
- $17^1/_2{}^0$ C. .... 50 —
- $16^1/_2{}^0$ C. .... 65 —
- 11—12^0 C. .... 10 jours.
- 9^0 C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. Pastorianus I.

Sous ce nom est désignée une levûre que j'ai souvent recueillie dans les poussières de l'air, dans une brasserie de Copenhague[1]). Cultivée dans du moût, elle produit une fermentation basse et développe des cellules qui ressemblent aux figures de la Pl. XI dans les „Etudes sur la bière", de M. Pasteur, et aux Fig. 11—12 Pl. II dans les „Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze" de M. Reess. Les ascospores (voir ma Planche III Fig. 2) ont en général une grandeur de $1^1/_2$ à $3^1/_2$ micromillim.; il est extrêmement rare que leur diamètre atteigne 5 micromillim. On en trouve le plus souvent dans chaque cellule le nombre qui est normal pour les Saccharomyces, à savoir 1—4, mais assez fréquemment aussi il se rencontre des cellules qui en renferment davantage, à savoir 5—10. La Fig. 2 b en donne des exemples. J'ai aussi, chez cette espèce, observé la formation cloisonnée (Fig. 2 a).

A $31^1/_2{}^0$ C. aucun développement d'ascospores.
- $29^1/_2$—$30^1/_2{}^0$ C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 30 h.
- 29^0 C. .... 27 -
- $27^1/_2{}^0$ C. .... 24 -
- $23^1/_2{}^0$ C. .... 26 -
- 18^0 C. .... 35 -
- 15^0 C. .... 50 -
- 10^0 C. .... 89 -
- $8^1/_2{}^0$ C. .... 5 j.
- 7^0 C. .... 7 -
- 3—4^0 C. .... 14 -
- $^1/_2{}^0$ C. aucun développement d'ascospores.

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Recherches sur les organismes qui, à différentes epoques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière. (Résumé du Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. 1 vol. 4 livraison 1882 p. 197).

Sacch. Pastorianus II.

Comme la précédente, cette espèce a été assez ordinairement observée dans les analyses que j'ai faites, dans les années 1878—1881, des poussières de l'air dans la brasserie de Copenhague ci-dessus mentionnée. Sa végétation dans le moût répond également aux figures citées du Sacch. Pastorianus de MM. Pasteur et Reess. Comparée avec la précédente, ses cellules sont en général un peu plus grandes; mais la différence n'est pas marquée, et mélange-t-on les deux espèces, il devient impossible de distinguer au microscope si l'on en a devant soi une ou plusieurs. En opposition avec le Sacch. Pastorianus I, il produit de faibles phénomènes de fermentation haute. Il doit donc différer de l'espèce avec laquelle M. Pasteur a expérimenté, car il est dit de celle-ci dans les „Études sur la bière" qu'elle est une levûre basse. Ses ascospores sont représentées dans ma Fig. 3. On voit en *a* les formations cloisonnées, en *b* deux cellules avec un nombre d'ascospores plus grand que le chiffre normal; il y en a 6 dans l'une et 7 dans l'autre, et au-dessus de ces deux, à gauche, est représentée une cellule en forme de boudin, qui en renferme 5. Cette dernière montre que les ascospores peuvent atteindre une grandeur notable, même lorsque la cellule mère en a engendré plus qu'à l'ordinaire. Leur grandeur varie de 2 à 5 micromillim.; les points extrêmes sont rares, surtout en ce qui concerne les diamètres de 4—5 micromillim.

A 29° C. aucun développement d'ascospores.
- 27-28° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 34 h.
- 25° C. .... 25 -
- 23° C. .... 27 -
- 17° C. .... 36 -
- 15° C. .... 48 -
- 11½° C. .... 77 -
- 7° C. .... 7 j.
- 3-4° C. .... 17 -
- ½° C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. Pastorianus III.

J'ai retiré cette espèce d'une bière basse de Copenhague qui était attaquée de la maladie qu'on appelle trouble de la levûre. Elle produit des phénomènes de fermentation haute plus marqués que l'espèce précédente. Les cellules qu'elle développe dans le moût ont le même aspect que celles des deux autres espèces appartenant à ce groupe, et ressemblent surtout au Sacch. Pastorianus I. Dans les cultures sur les blocs de plâtre, elles donnent naissance non seulement à des ascospores (Fig. 4), mais aussi, comme les précédentes, à des formations cloisonnées (Fig. 4 a); il y en avait également qui renfermaient chacune 5—10 ascospores (Fig. 4 b). Les spores mesuraient 2—4 micromillim. Les diamètres de 3½—4 étaient rares.

A 29° C. aucun développement d'ascospores.
- 27—28° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 35 h.
- 26½° C. .... 30 -
- 25° C. .... 28 -

A 22° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 29 h.
- 17° C. .... 44 -
- 16° C. .... 53 -
- $10^1/_2$° C. .... 7 j.
- $8^1/_2$° C. .... 9 -
- 4° C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. ellipsoideus I.

Cette espèce a été trouvée avec d'autres Saccharomyces à la surface de raisins mûrs que j'avais cueillis dans les Vosges pendant le temps des vendanges. Cultivée dans le moût de bière ou de vin, elle développe des cellules qui ressemblent beaucoup aux dessins que MM. Reess et Pasteur ont donnés du Sacch. ellipsoideus (ferment alcoolique ordinaire du vin, de Pasteur). De même que celles des autres espèces, elles peuvent prendre la forme de boudin et, en général, changer de forme, suivant les divers traitements auxquels on les soumet. Les déterminations de MM. Reess et Pasteur donnent donc tout aussi peu ici qu'ailleurs, dans ce domaine, des points de repère certains.

La Fig. 5 représente des spores, et la Fig. 5 a, une formation cloisonnée. Le diamètre des spores est de 2—4 micromillim., très rarement cependant de $3^1/_2$—4.

A $32^1/_2$° C. aucun développement d'ascospores.
- $30^1/_2$-$31^1/_2$° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 36 h.
- $29^1/_2$° C. .... 23 -
- 25° C. .... 21 -
- 18° C. .... 33 -
- 15° C. .... 45 -
- $10^1/_2$° C. .... $4^1/_2$ j.
- $7^1/_2$° C. .... 11 -
- 4° C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. ellipsoideus II.

Cette espèce se trouvait dans la bière malade mentionnée plus haut avec le Sacch. Pastorianus III et un Sacch. cerevisiæ. Les cellules cultivées dans le moût de bière ressemblent aussi bien au Sacch. ellipsoideus I qu'au Sacch. cerevisiæ. La Fig. 6 représente des cellules avec des ascospores mûres, la Fig. 6 c, des cellules avec des rudiments d'ascospores; c'est cette phase du développement qui a servi pour les déterminations du tableau ci-dessous. Les ascospores mesuraient 2—5 micromillim., les diamètres de 4—5 étaient comme d'habitude très rares.

A 35° C. aucun développement d'ascospores.
- 33—34° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 31 h.
- 33° C. .... 27 -
- $31^1/_2$° C. .... 23 -
- 29° C. .... 22 -

furent ensuite exposées sous une cloche maintenue humide. Contre son attente, il se produisit des spores dans l'intérieur de quelques cellules. A cause de la conformité que ces spores, sous certains rapports, ont avec celles des ascomycètes inférieurs, M. Reess les appelle ascospores et donne à la cellule mère le nom d'ascus. Lors de la germination des spores, il ne se développait que des cellules de levûre bourgeonnantes ordinaires.

Comme M. Reess a toujours travaillé avec des matériaux impurs, il est à prévoir qu'il n'a pu, sur plusieurs points, éviter de se tromper. Tel est, par ex., le cas pour les résultats qu'il croit avoir obtenus par la culture de la levûre basse, car tout prouve qu'il n'a pas observé d'ascospores chez cette forme de levûre, mais bien chez une ou plusieurs espèces de levûres spontanées. Ce qu'il communique au sujet d'un développement d'ascospores chez la levûre haute est tout à fait erroné, et il en est de même de sa remarque, que la production des ascospores serait favorisée par une basse température. A l'exception du Sacch. apiculatus, il décrit des ascospores chez toutes les espèces établies par lui, dans quelques cas, se sert de leurs dimensions comme caractère; mais une étude plus attentive montre qu'il n'existe pas dans la nature des limites telles que celles qu'indique M. Reess, observation qui s'applique en général aux caractères systématiques par lesquels il croit pouvoir différencier les espèces.

M. Engel[1]), dans son mémoire publié en 1872, communique une meilleure méthode pour produire le développement des spores. Les cellules de levûre sont semées sur la surface unie d'un bloc de plâtre, qu'on place ensuite dans un verre renfermant de l'eau afin que cette surface soit maintenue humide, après quoi on recouvre le vase avec une plaque de verre ou autrement. Le mémoire en question n'est du reste, en majeure partie, qu'une répétition dénuée de critique des résultats que M. Reess croyait avoir obtenus.

M. Engel dit avoir découvert chez le Sacch. apiculatus une nouvelle forme de fructification qui lui donnerait une certaine ressemblance avec le Protomyces macrosporus. Bien qu'il reconnaisse lui-même que ses recherches sur ce point n'ont pas été poursuivies jusqu'au bout, il n'hésite pas cependant, à cause de cette prétendue nouvelle forme de fructification, à faire de cette espèce le représentant d'un nouveau genre Carpozyma. J'ai déjà fait observer, dans un mémoire précédent[2]), que la communication de M. Engel repose sur une erreur, et puis maintenant ajouter qu'après avoir repris et varié de différentes manières ses expériences, je suis arrivé à ce résultat positif que le Sacch. apiculatus ne produit pas les organes de fructification décrits par M. Engel. Travaille-t-on sans beaucoup de soin, comme l'a fait M. Engel, on peut bien, de temps à autre, trouver

1) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

2) Emil Chr. Hansen, Ueber Saccharomyces apiculatus. (Hedwigia 1880, p. 75) et surtout: Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. (Résumé du compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, I. vol. Copenhague 1881 p. 173.)

dans les cultures sur le plâtre des corps qui ressemblent à la fructification de Protomyces qu'il a représentée, et leur apparition est aussi fréquente dans les cultures des autres espèces que dans celles du Sacch. apiculatus. Maintient-on au contraire les cultures parfaitement pures; ils cessent de s'y montrer. J'ai vainement essayé jusqu'ici de les classer; mais, d'après ce qui précède, il est certain qu'ils ne représentent pas une phase de développement du Sacch. apiculatus. Le nouveau genre établi par M. Engel ne saurait donc être reconnu.

M. Brefeld[1]) a attaqué l'interprétation donnée par M. Reess de la signification morphologique des spores des Saccharomyces. Ce genre est, suivant lui, voisin du Mucor racemosus. La cellule de levûre, avec ses spores endogènes, devient alors un petit sporange. Sous le nom d'asci, il ne comprend que des cellules qui non seulement produisent des spores dans leur intérieur, mais qui en outre se sont développées de la seconde génération asexuée issue d'un ascogon fécondé, et par suite la cellule de levûre ne peut être considérée comme un ascus. Ces objections, qui avaient quelque fondement à l'époque où il les a publiées, ont maintenant perdu de leur valeur, et quant à sa nouvelle interprétation, on peut en dire la même chose que de plusieurs des systèmes dont la morphologie compte un si grand nombre, qu'elle n'est ni meilleure ni plus mauvaise que l'ancienne. Il y a des raisons qui parlent en faveur de l'une et de l'autre, mais il n'y en a aucune qui soit décisive, et la question reste encore toujours pendante. Aussi nous en tiendrons-nous provisoirement, au point de vue de la morphologie, à l'interprétation de M. Reess, comme ayant la priorité de date.

Le travail de M. Reess a encore soulevé d'autres objections. C'est ainsi que M. Eidam[2]) assure que tant lui que plusieurs autres expérimentateurs ont toujours obtenu un résultat négatif en essayant de faire développer des ascospores des cellules de levûre, ce qui semblait impliquer que MM. Reess et de Seynes s'étaient peut-être trompés, et que les cellules de levûre ne pouvaient pas produire ces organes de fructification.

M. Brefeld[3]) s'est en partie exprimé de la même manière dans ses communications biologiques sur les ferments alcooliques. Suivant lui, les cellules de la levûre employée dans l'industrie (levûre haute et levûre basse des brasseries, et levûre des boulangers) ne peuvent développer des spores, et comme les cellules de la levûre du vin (levûre naturelle, levûre spontanée) jouissent à un très haut degré de cette propriété, il en conclut que la levûre de l'industrie l'a perdue à la suite d'une culture prolongée qui ne favorise que le bourgeonnement. Mais les recherches sur lesquelles M. Brefeld appuie cette

---

[1]) Brefeld, Mucor racemosus und Hefe. (Flora, 56 Jahrg. 1873, p. 385-399.)

[2]) Eidam, Der gegenwärtige Standpunkt der Mycologie, 1871, p. 30, zweite Auflage, p. 59—60.

[3]) Brefeld, Beobachtungen über die Biologie der Hefe. (Sitzungsber. der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin. 16 März 1875. Botan. Zeitung 1875 p. 401.

conclusion sont manquées, et la conclusion elle-même est par conséquent inexacte.

Les recherches que je poursuis depuis plusieurs années sur les ferments alcooliques m'ont donné la certitude que non seulement la „levûre spontanée", mais aussi la levûre de l'industrie développe des ascospores. J'en ai, même avec facilité, obtenu un développement abondant non seulement avec la levûre haute (Sacch. cerevisiæ) des distilleries et des fabriques de levûre de boulanger de Copenhague, de la distillerie de Biesdorf, de celle de Helbing, à Wandsbek, et de la fabrique de levûre de Mautner, à Vienne, mais aussi avec la forte levûre haute type qui est cultivée depuis un temps immémorial dans les brasseries d'Edimbourg, et nous fournit ainsi un remarquable exemple d'une levûre de ce genre vraiment ancienne. La fermentation haute, dans les îles Britanniques, appartient en effet à la plus ancienne industrie de fermentation que nous connaissions, et, tandis que, dans les brasseries du continent, elle a été peu à peu remplacée par la fermentation basse, elle y a été jusque dans ces derniers temps exclusivement employée. J'ai également constaté que la levûre basse des brasseries peut développer des ascospores, quoique moins facilement que les levûres mentionnées plus haut. C'est donc un fait acquis que la levûre de l'industrie, aussi bien que la levûre spontanée, peut donner naissance à des ascospores. D'un autre côté, voilà près de trois ans que je cultive dans du moût des levûres du groupe Sacch. Pastorianus dans le laboratoire de Carlsberg, et, pendant ce temps, j'en ai produit des générations sans fin, sans qu'il m'ait jamais été possible de découvrir la moindre trace d'affaiblissement dans leur faculté de former ces organes de fructification, et cependant mon attention était spécialement fixée sur ce point.

Dans ses cultures d'ascospores M. Brefeld s'est servi d'une lame de verre porte-objet, procédé qui avant lui avait été employé par M. David[1]).

M. Müntz[2]) dit avoir observé que les cellules de levûre de bière qui étaient cultivées dans une dissolution de glucose, produisaient des ascospores quand on y faisait passer un courant d'oxygène. Dans le texte danois, p. 36, sont décrites quelques expériences que j'ai faites à cette occasion, et qui montrent qu'un traitement par l'oxygène poursuivi pendant 5 heures n'exerce sous ce rapport aucune influence.

Tandis que les auteurs précédents, malgré les divergences que leurs communications présentent sur plusieurs points, sont cependant tous d'accord pour regarder les ascospores comme des organes de fructification normaux, M. van Tieghem[3]) a proposé une interpréta-

---

[1]) David, Ueber Rothweingährungspilze. (Annalen der Oenologie, 4 B. 1874, p. 223).

[2]) Müntz, Recherches sur les fonctions des champignons. (Comptes rendus hebd. des séances de l'Acad. des Sciences 1875, T. 80, p. 178—181. D'après le „Botan. Jahresbericht." 3. Jahrgang. p. 171.

[3]) Ph. van Tieghem, Troisième Mémoire sur Les Mucorinées. (Extrait des ann. des sc. nat. Botanique, 6 série, IV, 1878, p. 9.)

tion toute nouvelle. Suivant lui, la formation des ascospores est due à un état maladif du protoplasme qui aurait pour cause une altération des cellules de levûre par des bactéries. J'ai soumis la question à une épreuve expérimentale sur laquelle je reviendrai plus loin; elle m'a clairement montré que l'opinion de M. van Tieghem est erronée.

Pour ce qui concerne les autres travaux relatifs aux ascospores des Saccharomyces, je me réfère en partie au texte danois, en partie à la liste qu'on trouvera ci-dessous de la littérature du sujet.[1])

Si nous demandons quels résultats certains ont donnés les travaux que nous venons de passer en revue, nous voyons qu'à proprement parler, ils se bornent aux renseignements qui sont surtout dus à M. Reess, à savoir que des espèces du genre Saccharomyces, sous certaines conditions encore imparfaitement connues, peuvent former des cellules endogènes, et que celles-ci, par une culture dans des liquides nourriciers bien appropriés, se développent en cellules végétatives bourgeonnantes.

C'est d'ailleurs un point qui est toujours fort débattu, sans qu'on aboutisse à une solution définitive dans un sens ou dans l'autre, car les méthodes exactes, qui seules auraient pu y conduire, manquaient.

Les recherches sur les ascospores sont en connexion étroite avec la question fondamentale de la délimitation des espèces du genre Sac-

---

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Bullet. de l'Acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg, T. XVII. 1873.)

Blankenhorn und Moritz, Unters. über den Einfluss der Temperatur auf die Gährung. (Annalen der Oenologie, 3 B. 1873, p. 11.)

Schumacher, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. (Aus dem LXX. Bande der Sitzb. der k. Akad. der Wissensch. in Wien. I. Abth. Juni-Heft. Jahrg. 1874.)

Brefeld, Ueber Gährung. II—III. (Landwirthschaftl. Jahrb. IV B. 1875, p. 405—433 und V B. 1876, p. 281—343.)

Pasteur, Études sur la bière, 1876, p. 148 et 170.

Grawitz, Beiträge zur systemat. Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten. (Virchow's-Archiv. 70 B. 1877, p. 546—598.)

Reess, Ueber den Soorpilz. (Sitzungsbericht der physikalisch-medicinischen Societät zu Erlangen. Sitzung vom 9 Juli 1877. Botan. Zeitung 1878, p. 201.)

Bedeutung der technischen Rohstofflehre (techn. Waarenkunde) als selbstständiger Disciplin und über deren Behandlung als Lehrgegenstand an techn. Hochschulen, von Dr. Jul. Wiesner, Prof. an der Wiener Universität. (Dingler's Polytechnisches Journal. 237 B. Jahrg. 1880, p. 407 und folg.)

Kern, Ueber eine Milchferment des Kaukasus. (Botan. Zeit. XL. 1882, p. 264 und Biolog. Centralblatt 1882, 1 Mai.)

charomyces, question qui est de la plus grande importance tant pour la technique de la fermentation-que pour la physiologie. Pour les praticiens, elle a deux faces; peut-on soumettre à une culture méthodique ces différentes espèces dont on affirme la présence, et les obliger à nous donner des produits doués de propriétés autres et meilleures que celles que possèdent nos espèces actuelles? Ou bien: les levûres spontanées sont-elles une cause de trouble dans le mode d'exploitation suivi maintenant? Et comment alors nous défendre contre elles? Mais, dans tous les cas, c'est la même importante question: comment nous y prendre pour les atteindre et les soumettre à une expérimentation, et à quoi pouvons-nous les reconnaître!

Les savants qui, depuis la publication du travail de M. Reess, se sont livrés à des recherches physiologiques expérimentales sur les ferments alcooliques, ont bien vu, en général, qu'à eux aussi il se présentait de ces questions embarrassantes, mais ils les ont mises de côté comptant bien se tirer d'affaire sans y avoir égard. Chaque levûre de l'industrie a tout uniment été rangée sous la dénomination de Sacch. cerevisiæ. C'est tout au plus si l'on a fait une distinction entre la levûre haute et la levûre basse, mais sans s'inquiéter de savoir si l'une d'elles était pure de tout mélange avec l'autre, ou si la levûre cultivée renfermait des levûres spontanées, de sorte qu'en réalité on travaillait un peu au hasard et ne pouvait établir aucun contrôle. Expérimenter constamment sur des grandeurs inconnues, qui, finalement, sont cependant présentées comme connues, telle est donc la méthode assez peu scientifique qui a en général été suivie. On se consolait avec l'espoir que ces espèces importunes, qui peut-être étaient présentes, devaient se comporter de la même manière au point de vue physiologique, mais c'était compter sans son hôte. Dans mes derniers travaux, j'ai, par ex., établi qu'il y a quelques levûres et quelques cellules ressemblant à des levûres qui, en opposition avec toutes les autres, agissent seulement comme ferments alcooliques sans avoir la faculté de séparer l'invertine[1]). Et, dans mes prochains mémoires, je ferai voir par des exemples que, dans le groupe de Saccharomyces qui est doué des deux sortes d'activité fermentative, on trouve aussi des différences physiologiques très marquées.

Si l'on introduit dans un même liquide nourricier deux levûres alcooliques dont l'une énergique et l'autre faible, celle-ci, en général, aura bien le dessous dans la lutte qui s'établit entre elles, mais, de son côté, elle ralentira aussi dans une certaine mesure la multiplication de sa puissante rivale[2]). Si maintenant, comme c'est généralement le

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature (Hedwigia 1880, p. 75 et Résumé du compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 1er Vol. 1881 p. 174) et: Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière (Le même Compte-rendu 1er Vol. 1882 p. 215).

[2]) Voir mon mémoire: Sur le Sacch. apiculatus etc. p. 179.



cas, les deux levûres ont le même aspect, il s'ensuivra, dans l'état actuel des choses, que l'expérimentateur commettra une erreur en attribuant à l'une d'elles les résultats qui sont dus à la concurrence de deux espèces rivales. De pareilles erreurs se sont fréquemment produites et si, vérification faite, il se trouve qu'elles ne sont pas très grandes, c'est l'effet d'un heureux hasard et la méthode employée n'y est pour rien.

On a beaucoup parlé et écrit sur la dégénération de la levûre des brasseries; les revues étrangères y consacrent habituellement des articles signés par les spécialistes les plus éminents. Cette dégénération est attribuée à l'influence du malt, de l'eau et d'autres facteurs. Mais en examinant de plus près les considérations présentées en faveur de cette hypothèse, on voit que le tout se réduit à un exposé vague et obscur qui n'est appuyé par aucune recherche expérimentale exacte. En quoi consiste cette dégénération? D'où savons-nous que le Sacch. cerevisiæ peut dégénérer? La réponse est facile à donner: pour le moment, nous ne savons pas encore ce que c'est que le Sacch. cerevisiæ!

C'est seulement quand on saura s'il existe ou non des espèces et des races distinctes et que les caractères en auront été déterminés, qu'il sera possible d'assurer des points de départ certains aux recherches physiologiques, qui ont une égale importance pour la théorie et la pratique. C'est seulement alors qu'avec la perspective d'obtenir une solution satisfaisante des questions qui se posent sans cesse devant nous, on pourra entreprendre l'étude de l'activité des différentes espèces, des lois régissant les cas très compliqués qui se présentent lorsque ces espèces entrent en concurrence les unes avec les autres ou avec des organismes tout différents, tels que les bactéries, des rapports entre la levûre haute et la levûre basse, des conditions à remplir pour l'apparition des variétés, de l'activité physiologique de ces dernières et de leurs rapports avec les formes primitives.

Pendant qu'en 1878, je travaillais à mon mémoire sur les organismes qui peuvent se développer dans la bière et le moût de bière, j'avais la conscience des questions que je viens d'indiquer, et comprenais qu'il n'était pas possible d'aller plus loin dans la voie suivie par mes devanciers; c'est pourquoi, dans ma notice sur le genre Saccharomyces, je me suis surtout référé aux travaux déjà existants et, en rappelant combien nos connaissances à cet égard étaient incertaines, ai fait observer que les recherches, pour pouvoir réellement produire au delà de ce que MM. Reess et Pasteur avaient donné, devaient être entreprises à des points de vue tout autres qu'auparavant. Je soumis d'abord le Sacch. apiculatus, espèce qui se prête avec le plus de facilité à l'expérimentation, à une recherche portant sur différents points, et ce travail fut relativement aisé; mais les autres espèces me réservaient de très grandes difficultés. Bien que je n'aie cessé, pendant des années, de poursuivre la solution du problème, ce n'est qu'en 1881 que je réussis à la trouver et, après en avoir vérifié l'exactitude, j'en fis, l'année suivante, l'objet d'une courte communication

dans le „Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg“ Vol. 1, p. 205.

Les recherches dont il s'agit entrent ainsi dans de nouvelles voies, qui, je l'espère, conduiront à une réforme.

Je me propose, dans une série de mémoires, de traiter successivement à part chacun des éléments de la longue suite de recherches qu'exige cette étude. Dans ce qui suit, je m'occuperai principalement de l'influence de la température sur la formation des ascospores.

Méthodes.

Quiconque veut entreprendre des recherches expérimentales sur les ferments alcooliques, sera naturellement amené à faire une étude approfondie des „Études sur la bière“ de M. Pasteur; ce livre est en effet l'ouvrage principal sur cette matière.

Dans le quatrième chapitre, l'auteur traite de l'importante question des cultures à l'état de pureté et, parmi les formes sur lesquelles il expérimente, se trouve aussi un des organismes que M. Reess rapporte au genre Saccharomyces, à savoir le Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini) p. 109. Du vin, où il avait formé une membrane, il était semé dans du moût de bière, de là dans de l'eau de levûre sucrée et de nouveau enfin dans du moût de bière, M. Pasteur opérait comme d'habitude avec ses ballons connus à deux tubulures, avec un tube droit et court et un autre long et recourbé (voir sa Fig. 22), et les ensemencements se faisaient à l'aide d'un fil de platine passé préalablement dans une flamme, qu'il trempait dans la membrane et portait ensuite dans un des ballons, en ayant soin de ne le tenir ouvert qu'un instant. „De cette manière,“ dit M. Pasteur, „on éloigne du mycoderme toute trace de spores étrangères, particulièrement les germes du mycoderma aceti, compagnon habituel du mycoderma vini. Le mycoderma aceti se propage très difficilement sur les liquides sucrés neutres. Les jours suivants, des voiles de mycoderma vini s'étendent à la surface des liquides dans les ballons. Leur apparence est très pure. On vérifie au microscope l'absence complète d'un mélange de mycoderma aceti, de levûre lactique, etc.“ Telles sont les cultures pures de M. Pasteur.

Il y a ici deux points à considérer, à savoir comment il obtient ses cultures à l'état de pureté, et ensuite comment il les maintient à l'abri de toute infection du dehors pendant la durée des expériences. Relativement au premier point, nous avons vu qu'il cherche à atteindre son but en favorisant constamment, dans une série de cultures, l'organisme qu'il veut conserver, et en arrêtant en même temps le développement de celui ou de ceux qu'il veut éliminer. Dans l'expérience ci-dessus décrite, l'examen microscopique a montré qu'il n'y avait ni bactéries ni moisissures et que le voile ou la membrane ne se composait que de cellules ressemblant à des Saccharomyces. M. Pasteur

s'en tient là et regarde comme acquis que ces cellules appartiennent toutes à une seule espèce. Mais il n'a aucune certitude à cet égard. Il y a en effet plusieurs espèces de cellules qui, dans les conditions alimentaires mentionnées plus haut, peuvent former des membranes, et qui, à l'examen microscopique, ne peuvent être distinguées les unes des autres; la membrane peut même renfermer des cellules de levûres dont la nature est d'ailleurs de vivre à l'état de levûre de dépôt, et comme elles ont souvent la même forme et, en général, le même aspect que les espèces qui produisent des membranes, il n'est par suite pas possible de les découvrir par un simple examen microscopique. Par son procédé de culture, M. Pasteur a seulement pu écarter les organismes qui, dans les conditions alimentaires par lui choisies, n'étaient pas en état de soutenir une concurrence contre l'organisme favorisé, mais il y en a une foule d'autres (tous ceux qui demandent à peu près la même alimentation que cet organisme) qui peuvent vivre ensemble avec ce dernier sans qu'ils se gênent beaucoup mutuellement. Il est, en un mot, impossible d'établir une culture qui ne favorise qu'une seule des nombreuses espèces existantes. Ce procédé ne pourra donc être employé avec quelque certitude que dans les cas très rares où l'on aura affaire avec des espèces douées de caractères si distincts qu'il ne sera pas facile de les confondre avec d'autres, et qu'un contrôle deviendra par suite possible.

Mais supposons que M. Pasteur ait réellement réussi à obtenir une culture à l'état de pureté; nous arrivons alors au second côté de la question; comment la conserve-t-il? Ses ballons sont à cet égard d'un précieux secours. Relativement à leur emploi, nous ne pouvons mieux faire que de renvoyer aux descriptions détaillées qui se trouvent dans son ouvrage cité plus haut, p. 29 et suivantes. Ils sont surtout très utiles dans les cas où l'on doit cultiver pendant longtemps un microorganisme dans un liquide nourricier qu'il est nécessaire de souvent renouveler, ou lorsque, pour pouvoir exécuter une analyse chimique ou par d'autres motifs, il faut employer pour la culture de grandes quantités de liquide, et principalement lorsqu'on opère sur des ferments qui déterminent un grand dégagement d'air et une formation d'écume. Au laboratoire de Carlsberg, on les emploie dans des grandeurs variant de $^1/_8$ de litre à 1,25 lit. Ils peuvent naturellement être appropriés aux divers usages qu'on en fait.

Lorsque M. Pasteur parle d'une levûre pure ou qu'il se sert de la qualification „absolument pure“, il ne faut donc pas compendre par là qu'il s'agit d'une seule espèce de levûre, mais seulement que la soi-disant levûre pure est exempte de bactéries et de moisissures. Il ne dit lui-même rien de précis relativement à la limite de son procédé, et par suite on ne voit pas s'il l'a reconnue; mais ce que sa méthode a de défectueux apparaît surtout dans les parties du livre qui traitent de son „Dematium levûre“ (Sacch. Pastorianus), de sa „levûre caséeuse“ et de ses „levûres aérobies“.

Dans quelques endroits (par ex. p. 164 et 165), il dit sans détour que le Sacch. Pastorianus est une forme de développement d'une moisissure (Dematium) qu'on trouve en général sur les raisins; ailleurs (p. 170, 171 et 177), au contraire, il s'exprime en termes vagues et

l'on voit clairement qu'il n'est pas parvenu à trancher la question. Ce manque de clarté se manifeste aussi dans d'autres points de ses communications sur le Sacch. Pastorianus, par ex. p. 166, où il n'a pu décider si les cellules rondes et allongées observées par lui appartiennent réellement à la série du développement d'une même espèce.

Un autre point faible, ce sont également ses recherches sur la „levûre caséuse", p. 196. M. Pasteur dit avoir obtenu cette singulière levûre de la manière suivante: un liquide formé d'un mélange de moût de bière, d'eau saturée de bitartrate de potasse et d'alcool est porté à l'ébullition dans un de ses ballons à deux tubulures, refroidi, puis ensemencé avec de la levûre haute des distilleries et des brasseries, et, après l'ensemencement, le ballon est porté et maintenu à 50° dans un bain d'eau pendant une heure. Ce traitement, il l'appelle une méthode pour l'épuration des levûres, mais on ne voit pas comment l'idée lui en est venue. Considérons maintenant le résultat qu'il a obtenu. Au bout de quelques jours, la fermentation s'est déclarée, plusieurs cellules ont commencé à se propager et il s'est développé une levûre très curieuse qu'il a appelée „levûre caséuse" à cause du précipité caséeux qu'elle forme.

Ce que nous désirerions maintenant de savoir, c'est si cette nouvelle levûre provient d'une transformation des cellules de levûre haute ensemencées, ou si, au contraire, celles-ci ont été tuées par le traitement qu'on leur a fait subir, et si c'est une tout autre espèce de levûre qui a survécu, et, dans ce cas, une espèce qui, au commencement de l'expérience, se trouvait mêlée avec la levûre haute dont on s'est servi. Les recherches de M. Pasteur ne résolvent pas la question. Il semble cependant plutôt porté à admettre qu'on a affaire ici à une espèce étrangère qui, à l'origine, était mêlée avec la levûre haute. Ceux qui pourraient désirer de plus amples renseignements à ce sujet les trouveront dans un de mes prochains mémoires.

La partie du livre de M. Pasteur qui traite des „levûres aérobies", p. 201 et suivantes, souffre de manques analogues à ceux que nous venons de mentionner, et c'est pourquoi ce serait seulement une répétition fatigante que de les relever ici en détail.

La voie par laquelle on peut en tout état de cause obtenir une culture à l'état de pureté, quelles que soient d'ailleurs les propriétés physiologiques et morphologiques des microorganismes sur lesquels on opère, s'offre en réalité d'elle-même et n'est autre que l'ensemencement d'une seule cellule dans un liquide nourricier préalablement stérilisé, dé manière qu'aucun organisme étranger ne puisse y pénétrer pendant la culture. Il serait fort difficile de dire qui a le premier énoncé cette idée en soi si simple et cependant si féconde. Plusieurs savants se sont efforcés, dans ces dernières années, de résoudre le problème chacun à sa manière.

M. Pasteur, dans son livre p. 193, indique le procédé suivant. Une portion de la levûre avec laquelle on opère est desséchée et puis réduite en fine poussière. On fait alors tomber d'une hauteur convenable un nuage de cette poussière, et ouvre en même temps quelques ballons vides d'air et renfermant un liquide nourricier stérilisé qui sont placés au-dessous (ces ballons sont décrits dans le 1er vol.

de ce Compte-rendu, p. 198). Si les circonstances sont favorables, il pourra arriver que des cellules de levûre vivantes pénètrent isolément dans quelques-uns des ballons — une dans chaque — et y fondent par suite de véritables cultures à l'état de pureté. M. Pasteur a été amené à cet ordre d'idées par la considération que chaque cellule, dans une portion de levûre appartenant à une seule et même espèce, et, par conséquent aussi, chaque cellule dans une colonie développée d'une seule cellule mère, devait avoir ses particularités individuelles, et qu'en cultivant chaque cellule à part, on pourrait obtenir un nombre égal de levûres d'espèce différente, chacune avec une cellule comme point de départ. D'après cette manière de voir, une petite portion de levûre doit par conséquent renfermer un nombre énorme de variétés et la possibilité d'un nombre plus grand encore. M. Pasteur n'avait pas cependant des caractères pour distinguer les unes des autres les levûres qui naissaient dans les ballons.

Comme on pouvait s'y attendre, son expérience ne lui a donné aucun résultat positif, et il semble résulter de son langage qu'il s'est borné à un essai provisoire. Cet essai n'a pas non plus été renouvelé ni par lui ni par d'autres.

Après avoir essayé de nous rendre compte des méthodes qu'a employées M. Pasteur pour préparer des cultures de Saccharomyces à l'état de pureté, nous devons rappeler qu'il y a sept ans que son célèbre ouvrage a paru; s'il l'avait écrit maintenant, il l'aurait certainement modifié sur plusieurs points.

On voit par ce qui précède que ma tâche devait être: d'abord de perfectionner la méthode de manière à pouvoir obtenir des cultures provenant chacune d'une seule cellule, et ensuite de rechercher si ces cultures à l'état de pureté ont des caractères constants, et, dans ce cas, quels sont ces caractères.

Dans un ballon Pasteur à deux tubulures renfermant de l'eau qui avait été portée à l'ébullition et puis refroidie, j'ai introduit une petite portion de la levûre dont je désirais obtenir une culture à l'état de pureté. Dans des cultures préliminaires, j'avais constamment pris soin non seulement qu'elle se composât de cellules jeunes et vigoureuses, mais aussi, autant que possible, que les cellules de l'espèce à isoler y fussent en grande majorité. Après avoir secoué assez fortement le ballon pour répartir les cellules uniformément dans l'eau, j'en ai pris des échantillons afin de déterminer par une numération avec l'hématimètre le nombre des cellules contenues dans 1 centimètre cube du mélange, et calculé ensuite combien il fallait ajouter d'eau pour que 1 c. c. du mélange définitif contînt, par ex., 0,5 de cellule. Par conséquent si, dans une série de ballons renfermant un liquide nourricier stérilisé, on sème dans chacun 1 c. c., il n'y en aura que la moitié qui recevront chacun une cellule. Ce procédé m'a donné de bons résultats. Il a cependant ses inconvénients; on n'a notamment aucune certitude que le ballon avec le mélange définitif renferme réellement le nombre de cellules donné par le calcul; il peut

même arriver qu'il ne s'y trouve pas une seule cellule, comme aussi qu'il en contienne plus qu'il ne devrait. La raison en est qu'il est très difficile d'obtenir une égale répartition des cellules dans les mélanges fortement dilués avec lesquels on finit par opérer, et la difficulté est d'autant plus grande que le nombre des cellules est plus petit par rapport à la quantité d'eau où elles se trouvent.

Pour éviter les dilutions, qui en outre prennent beaucoup de temps, on peut employer un autre procédé. Au milieu d'une lame de verre couvre-objet (Fig. 1), on grave un carré de 4 millim. de côté, par ex., et le subdivise en nombreux petits carrés d'une grandeur telle qu'on puisse embrasser l'un d'eux à l'aide de l'objectif dont il faut se servir pour pouvoir distinguer avec certitude une petite cellule de levûre. Les dimensions du grand carré sont déterminées par la condition qu'une petite goutte d'eau contenant des cellules de levûre doit pouvoir être placée en dedans de son périmètre, et, comme on se propose de compter ces dernières, il est bon que le carré soit aussi petit que possible, la numération se faisant d'autant plus vite qu'il est plus petit. Mais l'essentiel est de bien veiller à ce que la *goutte ne dépasse en aucun point les limites du carré*, car ce serait la même chose que de mettre la goutte sur une lame de verre ordinaire, et il n'y aurait par conséquent plus de contrôle. Lorsque la goutte est en place, elle ne doit pas être trop bombée, afin qu'on puisse voir avec certitude tout ce qu'elle contient. Les petits carrés servent de points de repère pour la numération. La différence entre cet appareil de numération et celui de Hayem consiste en ceci, qu'avec ce dernier on peut seulement fractionner la goutte, mais non déterminer par une numération directe ce que la goutte entière contient, tandis que cela devient possible avec ma lame de verre. Pour empêcher que l'eau ne s'évapore et que les cellules ne se dessèchent, il faut relier la lame avec sa goutte à une chambre humide. La mettre comme d'habitude sur un porte-objet ne peut se faire, car la goutte sortirait alors de ses limites. Avec les microscopes ordinaires, on se sert de la chambre humide de Bøttcher, dont la Fig. 2 donne une coupe verticale; *a* est la lame de verre avec sa goutte *b*, tournée en bas; *c*, la chambre et *d*, la couche d'eau qui empêche l'évaporation. En employant un microscope renversé de Nachet, on peut se servir de ma chambre humide, et la goutte est alors tournée en haut[1]). Dans un ballon renfermant de l'eau stérilisée, on introduit un peu de la levûre qui doit faire l'objet de l'expérience, et, après l'avoir secoué pour répartir uni-

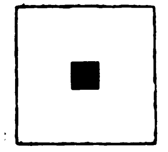


Fig. 1.

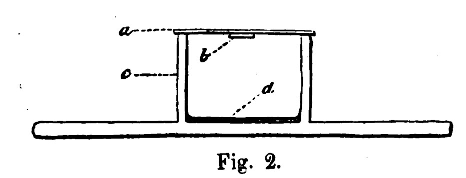


Fig. 2.

1) Emil Chr. Hansen, Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques (Résumé du compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 1er Vol. 1881 p. 184).

formément les cellules, on en enlève un petite goutte avec une mince tige de verre ou un fil de platine et la porte dans le grand carré gravé sur la lame de verre. Celle-ci est fixée à la chambre humide et l'on procède alors à la numération. Si la goutte est trop riche en cellules pour que la numération soit possible, il faut naturellement préparer un nouveau mélange plus fortement dilué; mais, avec un peu d'habitude, on pourra facilement éviter ce double travail. Le plus sûr est d'effectuer deux numérations et, si elles donnent des résultats concordants, on porte une goutte semblable à celle qui a servi pour la numération dans un ballon qui contient une certaine quantité préalablement pesée d'eau stérilisée. Le liquide qui doit servir à l'ensemencement est alors prêt et l'on sait qu'il contient, du moins à très peu de chose près, le nombre de cellules donné par le calcul.

La page 54 du texte danois, où la portée de la méthode est examinée, fait voir que, d'après le résultat des expériences, il y a seulement une certaine probabilité que quelques-uns des ballons ensemencés ont reçu chacun une cellule vivante. Il s'agit donc de trouver un caractère à l'aide duquel on puisse distinguer ces derniers des autres ballons infectés, et ce caractère nous est fourni par le nombre des taches de levûre qui se sont formées dans chacun ballon. Vu l'importance de cette observation pour l'analyse qui nous occupe, je l'ai déjà, l'année dernière, mentionnée dans ce Compte-rendu.

A partir du moment où un développement reconnaissable à l'œil nu se montre dans les ballons ensemencés, on observe assez facilement que, dans quelques-uns, il y a plusieurs taches de levûre, tandis que, dans tous les autres, il ne s'en trouve qu'une seule. Dans cette première période, elles apparaissent distinctement dans le liquide nourricier (dans ce cas, du moût de bière) encore clair. Suivant qu'on les regarde à la lumière transmise ou réfléchie, elles se présentent comme des taches sombres ou blanches qui ne nagent jamais dans le liquide, mais adhèrent toujours aux parois. Lorsque les ballons, sans être secoués, restent exposés, à la température ordinaire d'un appartement, on peut, au bout de quelques jours, observer ces taches et constater si le nombre en augmente ou non. Elles deviennent de plus en plus grandes, le liquide se sature peu à peu d'acide carbonique, de petites îles d'écume commencent à apparaître à la surface, la fermentation se déclare et le trouble et l'agitation qui en résultent dans le liquide mettent fin à l'examen macroscopique. Nous prenons alors les ballons qui, pendant toute la durée des observations, n'ont montré chacun qu'une seule tache de levûre; ce sont ceux qui renferment nos cultures à l'état de pureté, provenant chacune d'une seule cellule, ou, ce qui revient au même, d'une colonie de cellules unies entre elles et formant un tout. La preuve de l'exactitude de ma conclusion, qu'une seule tache dans un ballon ne peut provenir que d'une seule cellule est indirecte. En effet, si l'on suppose que, dans un de nos ballons avec du moût de bière, on introduise deux ou plusieurs cellules de levûre vigoureuses et isolées les unes des autres, ces cellules, pendant que le ballon, comme l'expérience l'exige, est fortement secoué pour que le liquide d'ensemencement se mélange bien avec le moût, se

sépareront en général encore davantage, et, si elles viennent à se propager, chacune d'elles formera son centre de végétation à part. Lorsque le liquide est rentré en repos, elles tombent en effet au fond et il n'est guère probable qu'elles aillent se fixer au même point. Si la végétation, dans un ballon renfermant une tache de levûre, se fixe à la paroi inclinée du ballon, et non au fond, c'est un nouveau signe qu'il n'a, à l'origine, reçu qu'une cellule, et les ballons de cette espèce sont précisément nombreux. Par conséquent, tandis qu'un centre de végétation dans un ballon signifie qu'il y a été semé une cellule vivante, on ne peut dire réciproquement que plusieurs centres de végétation soient en général dus à l'ensemencement de plusieurs cellules. Il n'est pas rare qu'un ballon qui n'a reçu qu'une cellule présente bientôt plusieurs centres de végétation. Survient-il en effet dans le liquide une agitation, même assez faible, après que cette cellule a par bourgeonnement formé une colonie, les cellules nouvellement nées se sépareront facilement pour fonder chacune leur centre de végétation. Il suit de là que, dans nos expériences, il y a eu d'ordinaire plus de cultures à l'état de pureté que nous n'en avons constaté.

Lorsque, dans mes recherches sur le genre Saccharomyces, je me sers du mot „espèce", j'entends par là une végétation que j'ai cultivée de différentes manières pendant plus d'une année, et qui, aussi longtemps que je l'ai observée, a toujours conservé certains caractères déterminés par lesquels elle pouvait être distinguée des espèces voisines. Quant à la question de savoir ce qu'il faut comprendre par species, variété, race ou modification, je ne l'aborderai pas dans ce mémoire et ne la traiterai que plus tard quand j'aurai terminé ces recherches. Je laisserai aussi en suspens, pour le moment, cette autre question, si les cellules végétatives, avec leurs ascospores, sont des organismes qui ont terminé leur évolution, ou seulement des formes d'un cycle plus étendu.

Peu après avoir commencé à employer la méthode décrite plus haut, je l'ai soumise à une épreuve facile en l'appliquant au Sacch. apiculatus, espèce caractérisée par sa forme bien définie et ses particularités physiologiques. Des cellules de cette espèce furent mélangées dans l'eau d'ensemencement avec des cellules de levûre ordinaire des brasseries, après quoi on les sema de la manière que j'ai décrite dans une série de ballons renfermant du moût de bière stérilisé. L'expérience terminée, quelques-uns des ballons ensemencés ne renfermaient que des cellules ovales semblables à celles de la levûre des brasseries, et les autres, que des cellules en forme de citron, appartenant au Sacch. apiculatus.

Relativement à plusieurs détails tant ici qu'ailleurs, je dois me référer au texte danois.

Dans son mémoire sur les méthodes de recherche des microorganismes [1]), M. Koch relève fortement l'importance qu'un substratum solide a pour leur culture. Comme tel, il emploie soit des tranches

[1]) Robert Koch, Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. I B. 1881. p. 18).

de pommes de terre, soit un mélange de gélatine avec un liquide nourricier stérilisé par l'ébullition. Pendant une visite que je fis, en 1882, dans son laboratoire, j'eus l'occasion de voir que son procédé pouvait donner de bons résultats en ce qui concerne l'étude des bactéries. C'est pourquoi j'essayai, à mon retour, de l'appliquer aux Saccharomyces. Pour m'assurer si, par ce moyen, on pouvait réellement en obtenir des cultures à l'état de pureté, je choisis deux espèces faciles à distinguer au microscope, à savoir le Sacch. apiculatus et le Sacch. cerevisiæ, et les portai dans un mélange de gélatine et de moût de bière maintenu liquide dans un bain d'eau chauffé à 30—35° C. Après avoir été secoué, pour que les cellules s'y répartissent autant que possible également, le mélange fut versé sur une plaque de verre préalablement passée à travers une flamme, et celle-ci, placée ensuite sous une cloche humide. Au bout de 2—3 jours, on put voir distinctement quelques petites taches grisâtres, et le 8e jour il s'était formé une touffe assez notable de moisissures. Après examen de la plaque, je constatai que le Penicillium glaucum était le seul organisme étranger qui se fût glissé dans la culture. La plaque contenait 70 taches de levûre dont la moitié environ appartenant à chaque espèce. Une seule tache (par conséquent 1,4 % du nombre total) renfermait les deux espèces de levûre, et le Sacch. cerevisiæ formait la couche supérieure, tandis que le Sacch. apiculatus était refoulé dans la couche inférieure, ce qui s'explique facilement, puisqu'il est le plus faible des deux. Lorsque, à l'aide du microscope, on veut reconnaître si une pareille tache est pure ou non, il ne faut jamais se contenter d'en examiner la couche supérieure, car si elle est formée par plusieurs organismes, on ne trouvera en général que le plus fort d'entre eux, comme tous les autres plus faibles ont été repoussés dans les couches inférieures. En répétant mon expérience avec le Sacch. apiculatus et une des espèces qui peuvent être rapportées au Sacch. Pastorianus, j'ai en somme obtenu le même résultat. Autant que je sache, ni M. Koch ni personne autre n'ont soumis la méthode à un contrôle de ce genre.

On voit donc par là que, dans la plupart des cas, les cellules de levûre ont été séparées et ensemencées chacune à part, et que les taches qu'elles ont formées renferment presque toujours des cultures à l'état de pureté. La question est maintenant de savoir comment on peut éviter les végétations impures qui se produisent comme des exceptions menaçantes. L'examen microscopique n'est applicable que dans les cas où l'on a affaire avec des formes caractéristiques telles que celles dont je me suis servi, mais, vis-à-vis du grand groupe des espèces à cellules ovales et en forme de boudin, on n'arrive à rien par cette voie. De même que dans mes expériences antérieures pour préparer des cultures à l'état de pureté, on est d'autant moins exposé à commettre des erreurs que l'espèce recherchée est plus prédominante dans la levûre qu'on emploie. Le résultat est naturellement le même en répétant l'expérience de manière que la première devienne le point de départ de la deuxième, la deuxième, de la troisième, etc. Cependant cette méthode ne donne pas une certitude pleinement satisfai-

sante; on opère toujours un peu à l'aventure et ne possède aucun moyen de contrôle qui puisse indiquer si l'on a ou non atteint le but.

Pour obtenir des cultures à l'état de pureté à l'aide de la gélatine, il faut que les cellules soient suffisamment isolées les unes des autres, de manière que les colonies développées par bourgeonnement ne puissent se fusionner. Le nombre des cellules doit donc être assez petit par rapport à la masse de la gélatine (v. le texte danois p. 59—60).

La seule voie par laquelle nous puissions obtenir la certitude absolue qu'une tache est formée d'une ou de plusieurs cellules, est d'entreprendre une culture dans une chambre humide. J'ai fait l'expérience de la manière suivante: quelques cellules de levûre ayant, comme à l'ordinaire, été bien réparties dans de la gélatine nutritive liquide, je répandis une couche assez mince du mélange sur une lame de verre couvre-objet, qui fut ensuite fixée à l'une des chambres mentionnées p. 24 avec la couche de gélatine tournée en bas. Le couvre-objet, la chambre, en un mot tous les appareils dont je me servais, avaient préalablement été passés à travers une flamme. La gélatine une fois solidifiée, je cherchai, par exemple, deux cellules qui eussent un aspect vigoureux et dont la place dans la préparation fût favorable au développement de colonies séparées, et, après en avoir noté la position, je plaçai la chambre dans un thermostat chauffé à 25° C. Au bout de quelques heures, le bourgeonnement était en pleine activité. En soumettant, à de courts intervalles, la préparation à un examen microscopique, je pus suivre pas à pas le développement et constater sûrement si les colonies qui se développaient successivement provenaient d'une ou de plusieurs cellules. Au bout de 24 heures, les taches pouvaient se distinguer à l'œil nu; elles étaient rondes et gris clair; 12 heures plus tard, elles étaient aussi grandes que de petites têtes d'épingles. Dans ces dernières phases, l'examen est très facile et conciste simplement à voir si, dans le voisinage des colonies, il s'en forme d'autres pouvant se fusionner avec celles qui ont déjà été observées. Comme notre gélatine forme un fond solide où les cellules semées sont emprisonnées, peu importe qu'il y en ait plusieurs, pourvu seulement que quelques-unes d'entre elles soient suffisamment isolées pour pouvoir chacune fonder leur colonie sans qu'une fusion avec d'autres puisse survenir. Cette fusion aurait au contraire lieu si l'on se servait d'un liquide pour les cultures; le but ne saurait alors être atteint qu'en semant une seule cellule, et par suite le problème serait rendu beaucoup plus difficile. La méthode de M. Koch, avec la modification que nous venons de décrire, fournit un moyen parfaitement sûr d'obtenir une culture à l'état de pureté. Après que les taches ainsi observées étaient devenues plus distinctes, on prenait dans chacune d'elles, avec un fil de platine préalablement passé à travers une flamme, quelques cellules qu'on introduisait rapidement dans des ballons renfermant du moût de bière stérilisé.

Dans ces expériences avec la gélatine, l'incertitude ne survient qu'au moment où la lame de verre couvre-objet est enlevée de la chambre humide et où les cellules sont introduites dans les ballons,

car une infection des organismes de l'air est alors possible. Mais ce danger n'est guère à craindre si l'on opère rapidement dans une pièce propre et un air tranquille. C'est ce que montrent les recherches décrites dans le texte danois, p. 62.

Dans mes recherches sur les ferments alcooliques, j'ai traité un assez grand nombre d'espèces. J'en ai puisé les matériaux pour la plus grande part dans le voisinage du laboratoire, dans les jardins attenants, dans les brasseries et les distilleries de Copenhague; mais j'en ai aussi reçu beaucoup de l'étranger, et en ai rapporté moi-même encore davantage d'un voyage dans les Vosges, où je passai le temps des vendanges pour étudier la fermentation du vin. Comme procédé à la fois bon et très commode pour conserver en voyage des échantillons de levûre, je puis recommander le suivant: la levûre en question est versée sur un petit morceau de papier brouillard, qui est ensuite plié comme deux feuillets d'un livre de manière qu'elle forme entre eux une couche très mince. A l'aide d'un autre morceau du même papier on absorbe autant que possible la partie liquide, et la préparation est ensuite mise dans une double enveloppe, également de papier brouillard. Ce papier doit, dans tous les cas, être passé à travers une flamme avant qu'on s'en serve. La préparation ainsi bien empaquetée reste pendant une semaine, à la température ordinaire d'un appartement, exposée à l'action de l'air, après quoi on ôte l'enveloppe extérieure pour éloigner les poussières que l'air y a déposées, et la levûre, qui est alors presque sèche, peut dans cet état être gardée plusieurs mois dans un tiroir sans que les cellules meurent. Si, comme il arrive souvent en voyage, on n'a pas le temps de laisser sécher la préparation dans une chambre, il n'y a aucun risque à la mettre tout de suite dans sa malle, surtout si l'on a d'abord eu soin d'en exprimer autant que possible l'humidité avec du papier brouillard. A l'aide de ce procédé, on peut, à peu de frais et sans beaucoup de peine, expédier au loin des échantillons de levûre dans une enveloppe de lettre ordinaire. Une grande partie des matériaux que j'ai employés pour mes études m'ont été envoyés de cette manière au laboratoire.

Pour conserver pendant longtemps de pareils échantillons, j'ai également, avec succès, employé un liquide stérilisé qui se composait de moût de bière ordinaire, additionné de 10 vol. % d'alcool et d'un peu d'eau saturée de bitartrate de potasse. Comme les cellules de levûre qu'on y met provoquent régulièrement une légère fermentation, il faut que les flacons qui renferment le mélange ne soient remplis qu'à moitié. Une qualité essentielle de ce liquide, c'est qu'on n'est pas incommodé par une fermentation un peu forte; aussi peut-on boucher les flacons aussitôt après y avoir introduit la levûre sans qu'une explosion soit à craindre. Il a par là un avantage sur les dissolutions de saccharose, qui du reste sont aussi propres à conserver pendant longtemps des levûres.

Par le premier de ces procédés, les cellules ont souvent conservé leur vigueur pendant 20 mois, et il est possible que quelques espèces puissent vivre encore plus longtemps dans ces conditions. Des cellules jeunes et vigoureuses se conservent d'ordinaire plus longtemps que des

cellules vieilles et faibles de la même espèce. Dans aucun de mes échantillons, les cellules ne sont mortes avant l'expiration des 5 premiers mois. Si, à l'origine, un des échantillons renfermait plusieurs espèces, et que l'une d'elles y fût prédominante, celle-ci continuait aussi généralement à l'être dans la végétation qui se produisait, lorsque la préparation avait été semée pendant les 2—3 premiers mois dans un liquide nourricier. Tardait-on au contraire plus longtemps, il n'était pas rare que les cellules qui prenaient naissance fussent, soit exclusivement soit en majeure partie, d'une espèce tout autre que celle qu'on avait attendue, et par conséquent d'une espèce qui, au début de l'expérience, constituait un élément secondaire de la levûre séchée. La raison en est que les différentes espèces ne supportent pas également le séchage; les unes s'affaiblissent plus que d'autres, et il y a aussi une différence quant au temps pendant lequel elles peuvent vivre après avoir été séchées comme je l'ai dit.

Les cellules de levûre se maintiennent aussi bien dans le liquide nourricier alcoolique et acide mentionné plus haut que dans les préparations avec du papier brouillard. Que, dans ces conditions, les diverses espèces se comportent aussi entre elles d'une manière différente, c'est fort probable; mais je ne m'en suis pas assuré expérimentalement.

Les cultures décrites plus loin, que j'ai entreprises pour amener des cellules de levûre à développer des ascospores, ont, sauf indication contraire, toutes été pratiquées à l'aide des blocs de plâtre mentionnés p. 14 et avec des cellules jeunes et vigoureuses. L'ensemencement était préparé de la manière suivante: après que les cellules choisies avaient été cultivées pendant quelque temps dans du moût de bière (env. 14 % Ball.) à la température ordinaire d'un appartement, on semait un peu de levûre jeune dans un autre moût de la même qualité que le précédent, et la cultivait pendant 24 heures à 26—27° C. Les cellules ainsi obtenues étaient semées sur les blocs de plâtre, et lorsque ceux-ci s'étaient saturés d'humidité, ce qu'indiquaient leurs surfaces devenues un peu brillantes, on les exposait dans un thermostat à des températures convenables. Mon but était de me rendre compte de l'influence de la température sur la formation des ascospores, et ensuite de constater si, sous ce rapport, les espèces se comportaient ou non de la même manière, et, s'il y avait des différences, de les déterminer. Je devais ainsi, pour chacune de mes cultures à l'état de pureté mentionnées plus haut, rechercher à quelles températures le développement des ascospores cessait de se produire, par conséquent trouver les températures limites, puis déterminer la température optimum et enfin, pour compléter la courbe, entreprendre des recherches sur un nombre suffisant de températures intermédiaires. Pour obtenir un point de repère aussi sûr que possible, j'ai, pour mes déterminations, choisi le moment où, dans mes cultures, il est possible, pour la première fois, de découvrir des

rudiments certains. Ce que j'entends par là est représenté sur la Pl. III, Fig. 1 et 6 c. Il semble au premier abord qu'il eût mieux valu prendre pour point de repère le moment où la spore mûre était développée; mais il n'est guère possible de déterminer ce moment avec certitude, ni en général de voir si une spore est mûre ou non. Le moment que j'ai choisi ne présente pas de telles difficultés.

Les ascospores se développent également lorsque les cellules de levûre sont à la surface d'une couche de gélatine solide stérilisée, qui, tant que dure l'expérience, est maintenue humide. Il est commode de se servir pour cela de lames de verre porte-objet, sur lesquelles on répand la gélatine liquide en couche pas trop mince; peu importe qu'elle soit mélangée ou non avec un liquide nourricier, car, dans les deux cas, j'ai obtenu une riche production d'ascospores. On peut, en les disposant dans un cadre, placer un assez grand nombre de ces lames de verre sous la même cloche. C'est un moyen relativement rapide et commode pour entreprendre à la fois une nombreuse série d'expériences.

J'ajouterai enfin qu'en cultivant quelques espèces dans de l'eau de levûre que j'aérais de temps à autre, j'ai aussi obtenu des ascospores.

Expériences.

Les six formes avec lesquelles ont été exécutées les expériences suivantes peuvent être rapportées à trois anciennes espèces: le Sacch. cerevisiæ, le Sacch. Pastorianus et le Sacch. ellipsoideus. Je les désignerai provisoirement ainsi:

Sacch. cerevisiæ I.

Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III

Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II.

Leurs cultures à l'état de pureté ont été obtenues à l'aide des méthodes exposées plus haut.

D'après l'ancien schéma, on pourrait bien, avec ces six formes, établir tout de suite trois ou peut-être quatre espèces distinctes, et alors peu importeraient celles à qui on appliquerait les noms de M. Reess. De chacune des espèces ci-dessus mentionnées (je les appellerai de ce nom pour abréger, mais sans préjuger les résultats des recherches), il peut en effet, par un traitement convenable, se développer des formes qui se laissent rapporter à toutes les species productrices d'ascospores qui figurent dans la classification de M. Reess. Les caractères indiqués par M. Pasteur ne sont pas non plus suffisants.

Les groupements qui précèdent signifient seulement que les levûres désignées sous le même nom spécifique peuvent être rapportées à l'espèce de même nom chez M. Reess, mais il ne s'ensuit nullement que les espèces rapportées au même groupe aient la même origine et dérivent de la même racine. Je me réfère de nouveau ici à mes remarques, p. 26, sur les species, les variétés et les modifications.

Mes mémoires ultérieurs traiteront successivement d'un plus grand nombre d'espèces, et les recherches nécessaires une fois termi-

nées, j'indiquerai les limites ainsi trouvées des species existantes et donnerai à ces dernières des noms systématiques.

Dans ce qui suit, les six espèces sont examinées dans l'ordre où je les ai nommées; les figures correspondantes sur les planches sont également disposées dans le même ordre.

Sacch. cerevisiæ I.

Cette espèce constituait la principale partie d'une levûre haute que je reçus, il y a quelques années, d'une brasserie d'Edimbourg, et plus tard aussi d'une brasserie de Londres. C'est une forme vigoureuse de levûre haute. Sur la planche III Fig. 1, sont représentés des exemples de cellules avec des ascospores. Celles-ci, comme chez tous les Saccharomyces, sont grisâtres aussi bien à la lumière transmise que réfléchie et plus ou moins sphériques. La grandeur en varie de $2^1/_2$ à 6 micromillim. Les points extrêmes sont cependant rares. On en trouve en général 1—4 dans chaque cellule mère, et ce n'est que tout exceptionnellement que j'en ai observé 5 (voir Fig. 1 b). Les parois des spores y sont ordinairement plus distinctes que chez les espèces suivantes. Les spores de ces dernières ont certainement aussi un pouvoir réfringent plus grand que celles de l'espèce dont il s'agit.

Comme chez toutes les espèces, c'est chose fort ordinaire que les ascospores d'une même cellule mère ont des grandeurs différentes. J'ai également souvent observé que la même cellule mére a à la fois développé des ascospores et poussé un bourgeon. Les figures de quelques-unes des espèces suivantes montrent même la cas où non seulement la cellule mère, mais aussi le bourgeon, a développé des ascospores. Le groupement des ascospores est le même chez toutes les espèces, et on trouvera indiqués sur les figures plusieurs exemples des modifications qui peuvent s'y produire.

La Fig. 1 c représente des cellules avec des ascospores non développées, c'est-à-dire dans la phase qui, nous l'avons dit plus haut, a été employée pour constater le temps que demande le développement des ascospores, lorsque les cellules végétatives sont, dans les conditions décrites, soumises à l'influence d'une température déterminée. La Fig. 1 a est une forme particulière de développement qui est fréquente. Les cellules sont divisées ici par des cloisons en plusieurs parties qui peuvent chacune pousser des bourgeons. J'ai, dans mes notes, désigné ce développement sous le nom de formation cloisonnée, et je l'appellerai de même chez les autres espèces où je l'ai observé. Quant à dire comment il se produit et quelle en est la signification, c'est une question dont mes autres travaux ne m'ont pas encore laissé le temps d'entreprendre l'étude. Il est probable que quelques-uns de mes devanciers ont aussi observé ces formations, mais les ont confondues avec la production proprement dite des ascospores.

Le tableau ci-dessous indique avec quels intervalles se produit le développement des ascospores, lorsque les cellules végétatives sont soumises au traitement mentionné p. 30, traitement qui a été le même pour le Sacch. cerevisiæ I que pour les cinq espèces suivantes.

A 37½° C. aucun développement d'ascospores.
- 36-37° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 29 heures.
- 35° C. .... 25 —
- 33½° C. .... 23 —
- 30° C. .... 20 —
- 25° C. .... 23 —
- 23° C. .... 27 —
- 17½° C. .... 50 —
- 16½° C. .... 65 —
- 11—12° C. .... 10 jours.
- 9° C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. Pastorianus I.

Sous ce nom est désignée une levûre que j'ai souvent recueillie dans les poussières de l'air, dans une brasserie de Copenhague[1]. Cultivée dans du moût, elle produit une fermentation basse et développe des cellules qui ressemblent aux figures de la Pl. XI dans les „Etudes sur la bière“, de M. Pasteur, et aux Fig. 11—12 Pl. II dans les „Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze“ de M. Reess. Les ascospores (voir ma Planche III Fig. 2) ont en général une grandeur de 1½ à 3½ micromillim.; il est extrêmement rare que leur diamètre atteigne 5 micromillim. On en trouve le plus souvent dans chaque cellule le nombre qui est normal pour les Saccharomyces, à savoir 1—4, mais assez fréquemment aussi il se rencontre des cellules qui en renferment davantage, à savoir 5—10. La Fig. 2 b en donne des exemples. J'ai aussi, chez cette espèce, observé la formation cloisonnée (Fig. 2 a).

A 31½° C. aucun développement d'ascospores.
- 29½—30½° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 30 h.
- 29° C. .... 27 -
- 27½° C. .... 24 -
- 23½° C. .... 26 -
- 18° C. .... 35 -
- 15° C. .... 50 -
- 10° C. .... 89 -
- 8½° C. .... 5 j.
- 7° C. .... 7 -
- 3—4° C. .... 14 -
- ½° C. aucun développement d'ascospores.

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Recherches sur les organismes qui, à différentes epoques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se développer dans le moût de bière. (Résumé du Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. 1 vol. 4 livraison 1882 p. 197).

Sacch. Pastorianus II.

Comme la précédente, cette espèce a été assez ordinairement observée dans les analyses que j'ai faites, dans les années 1878—1881, des poussières de l'air dans la brasserie de Copenhague ci-dessus mentionnée. Sa végétation dans le moût répond également aux figures citées du Sacch. Pastorianus de MM. Pasteur et Reess. Comparée avec la précédente, ses cellules sont en général un peu plus grandes; mais la différence n'est pas marquée, et mélange-t-on les deux espèces, il devient impossible de distinguer au microscope si l'on en a devant soi une ou plusieurs. En opposition avec le Sacch. Pastorianus I, il produit de faibles phénomènes de fermentation haute. Il doit donc différer de l'espèce avec laquelle M. Pasteur a expérimenté, car il est dit de celle-ci dans les „Études sur la bière“ qu'elle est une levûre basse. Ses ascospores sont représentées dans ma Fig. 3. On voit en *a* les formations cloisonnées, en *b* deux cellules avec un nombre d'ascospores plus grand que le chiffre normal; il y en a 6 dans l'une et 7 dans l'autre, et au-dessus de ces deux, à gauche, est représentée une cellule en forme de boudin, qui en renferme 5. Cette dernière montre que les ascospores peuvent atteindre une grandeur notable, même lorsque la cellule mère en a engendré plus qu'à l'ordinaire. Leur grandeur varie de 2 à 5 micromillim.; les points extrêmes sont rares, surtout en ce qui concerne les diamètres de 4—5 micromillim.

A 29° C. aucun développement d'ascospores.
- 27-28° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 34 h.
- 25° C. .... 25 -
- 23° C. .... 27 -
- 17° C. .... 36 -
- 15° C. .... 48 -
- $11^1/_2$° C. .... 77 -
- 7° C. .... 7 j.
- 3-4° C. .... 17 -
- $^1/_2$° C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. Pastorianus III.

J'ai retiré cette espèce d'une bière basse de Copenhague qui était attaquée de la maladie qu'on appelle trouble de la levûre. Elle produit des phénomènes de fermentation haute plus marqués que l'espèce précédente. Les cellules qu'elle développe dans le moût ont le même aspect que celles des deux autres espèces appartenant à ce groupe, et ressemblent surtout au Sacch. Pastorianus I. Dans les cultures sur les blocs de plâtre, elles donnent naissance non seulement à des ascospores (Fig. 4), mais aussi, comme les précédentes, à des formations cloisonnées (Fig. 4 a); il y en avait également qui renfermaient chacune 5—10 ascospores (Fig. 4 b). Les spores mesuraient 2—4 micromillim. Les diamètres de $3^1/_2$—4 étaient rares.

A 29° C. aucun développement d'ascospores.
- 27—28° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 35 h.
- $26^1/_2$° C. .... 30 -
- 25° C. .... 28 -

A 22^0 C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 29 h.
- 17^0 C. . . . . 44 -
- 16^0 C. . . . . 53 -
- $10^1/_2{}^0$ C. . . . . 7 j.
- $8^1/_2{}^0$ C. . . . . 9 -
- 4^0 C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. ellipsoideus I.

Cette espèce a été trouvée avec d'autres Saccharomyces à la surface de raisins mûrs que j'avais cueillis dans les Vosges pendant le temps des vendanges. Cultivée dans le moût de bière ou de vin, elle développe des cellules qui ressemblent beaucoup aux dessins que MM. Reess et Pasteur ont donnés du Sacch. ellipsoideus (ferment alcoolique ordinaire du vin, de Pasteur). De même que celles des autres espèces, elles peuvent prendre la forme de boudin et, en général, changer de forme, suivant les divers traitements auxquels on les soumet. Les déterminations de MM. Reess et Pasteur donnent donc tout aussi peu ici qu'ailleurs, dans ce domaine, des points de repère certains.

La Fig. 5 représente des spores, et la Fig. 5 a, une formation cloisonnée. Le diamètre des spores est de 2—4 micromillim., très rarement cependant de $3^1/_2$—4.

A $32^1/_2{}^0$ C. aucun développement d'ascospores.
- $30^1/_2$-$31^1/_2{}^0$ C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 36 h.
- $29^1/_2{}^0$ C. . . . . 23 -
- 25^0 C. . . . . 21 -
- 18^0 C. . . . . 33 -
- 15^0 C. . . . . 45 -
- $10^1/_2{}^0$ C. . . . . $4^1/_2$ j.
- $7^1/_2{}^0$ C. . . . . 11 -
- 4^0 C. aucun développement d'ascospores.

Sacch. ellipsoideus II.

Cette espèce se trouvait dans la bière malade mentionnée plus haut avec le Sacch. Pastorianus III et un Sacch. cerevisiæ. Les cellules cultivées dans le moût de bière ressemblent aussi bien au Sacch. ellipsoideus I qu'au Sacch. cerevisiæ. La Fig. 6 représente des cellules avec des ascospores mûres, la Fig. 6 c, des cellules avec des rudiments d'ascospores; c'est cette phase du développement qui a servi pour les déterminations du tableau ci-dessous. Les ascospores mesuraient 2—5 micromillim., les diamètres de 4—5 étaient comme d'habitude très rares.

A 35^0 C. aucun développement d'ascospores.
- 33—34^0 C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 31 h.
- 33^0 C. . . . . 27 -
- $31^1/_2{}^0$ C. . . . . 23 -
- 29^0 C. . . . . 22 -

A 25° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 27 h.
- 18° C. .... 42 -
- 11° C. .... $5^1/_2$ j.
- 8° C. .... 9 -
- 4° C. aucun développement d'ascospores.

Dans les figures citées plus haut, je me suis efforcé, autant que possible, de donner des exemples des différentes formes de cellules à ascospores que peuvent développer les espèces dont il s'agit lorsqu'on les cultive de la manière que j'ai décrite. Elles ont aussi été dessinées d'après de nombreuses préparations, et reproduisent par conséquent non seulement les cas les plus fréquents, mais aussi les exceptions.

Un coup d'œil jeté sur la planche III montre qu'on peut retrouver essentiellement les mêmes formes, les mêmes groupements et les mêmes dimensions chez toutes les espèces. Cependant les spores du Sacch. cerevisiæ I atteignent une grandeur qui dépasse un peu celle observée jusqu'ici chez les autres espèces, à savoir 6 micromillim., tandis que le diamètre maximum des spores de ces dernières est de 5 micromillim.; mais, à partir de ce point extrême, on rencontre aussi, chez le Sacch. cerevisiæ I, une série de spores dont le diamètre descend successivement jusqu'à 2 micromillim. environ. Nous avons donc également chez cette espèce les grandeurs qui sont fréquentes chez les cinq autres, à savoir $3^1/_2$—$2^1/_2$ micromillim. Chez le Sacch. Pastorianus I, j'ai observé des spores qui mesuraient seulement $1^1/_2$ micromillim., par conséquent $^1/_2$ micromillim. de moins que les spores les plus petites des autres espèces; mais je ne doute pas qu'en poursuivant ces recherches, on n'arrive aussi à trouver chez celles-ci, et notamment chez les trois dernières, des spores tout aussi petites.

Si nous nous figurons les spores représentées sur la planche III mélangées les unes avec les autres, et que nous n'ayons pour nous guider que les spores elles-mêmes, par conséquent leurs dimensions, leur groupement dans la cellule mère et leur aspect, nous n'apprendrons pas grand' chose sur les espèces contenues dans ce mélange. Nous rapporterons au Sacch. cerevisiæ I les quelques grandes spores de 6 micromillim. et au Sacch. Pastorianus I les petites qui n'en mesurent que $1^1/_2$; mais cela fait, nous serons au bout de notre savoir, et, comme il a été dit plus haut, nous ne sommes pas même assuré de l'exactitude de ces deux points. Quant aux autres spores, nous ne pouvons avoir la moindre idée de la manière dont il faut les classer.

Si, au contraire, nous nous en tenons à l'ancienne méthode et la prenons pour guide, nous pourrons, dans les formes et les dimensions des cellules d'une seule et même espèce à ascospores, trouver des exemples de toutes ou du moins de la plupart des espèces à ascospores du système. La Fig. 2 le montre clairement. On y trouve des cellules qui peuvent être rapportées au Sacch. cerevisiæ, au Sacch. ellipsoideus, au Sacch. exiguus et au Sacch. Pastorianus, par conséquent quatre espèces représentées en une seule. Les autres figures fournissent aussi des exemples analogues. Si le système de M. Reess

est soumis ici à une critique, il ne faut pas oublier que son livre était pour son époque un travail plein de mérite; on y trouve notamment une attaque très habile contre les exagérations alors régnantes de la doctrine du pléomorphisme chez les champignons.

De ce qui précède, nous pouvons déjà conclure que ni la forme, ni la grandeur, ni l'aspect d'une cellule ne sont suffisants pour donner les caractères de l'epèce, et qu'il en est de même des ascospores.

Mais, considérée à un autre point de vue, la forme de la cellule fournit des caractères importants. J'ai déjà mentionné, aussi bien dans ce mémoire que dans une première communication de 1882, concernant les nouvelles méthodes pour l'étude des Saccharomyces, que les cellules des différentes espèces, lorsqu'elles sont soumises à un certein traitement, peuvent prendre différentes formes, de sorte, par ex., que des cellules ovales sont obligées de développer des cellules allongées et celles-ci, des cellules ovales. C'est encore ici la manière différente dont les espèces réagissent contre les mêmes influences extérieures qui nous donne de précieux renseignements.

Les expériences communiquées plus haut sur le développement des ascospores ont montré qu'il est dépendant de la température, de telle sorte que, dans les limites où il peut avoir lieu, il se produit lentement à une basse température et s'accélère, à mesure que celle-ci s'élève, jusqu'à un certain point à partir duquel il se ralentit de nouveau pour s'arrêter bientôt. Chez aucune des six espèces examinées, ce développement n'a été observé à des températures plus basses qu'entre $^1/_2$ et 3° C., et la température la plus haute à laquelle il se soit encore produit était voisine de $37^1/_2$° C. La marche du développement, chez les six espèces, est représentée sur les Pl. I et II par autant de courbes désignées chacune par le nom de l'espèce correspondante, et ayant pour abscisses les températures et pour ordonnées le temps que chacune d'elles exige pour le développement des ascospores. Les six courbes ont une forme analogue. A partir de l'ordonnée correspondant à la température la plus basse, elles se rapprochent de l'axe des abscisses et s'en éloignent ensuite un peu; mais les points déterminés par les températures maxima et minima fournissent des caractères distinctifs entre les espèces.

Chez le Sacch. cerevisiæ I, ce développement s'arrête ainsi à une température comprise entre 9 et 11° C. et à $37-37^1/_2$° C.

Chez le Sacch. Pastorianus I, il s'arrête à des températures comprises entre $^1/_2$ et 3 et entre $30^1/_2$ et $31^1/_2$° C.

Chez le Sacch. Pastorianus II, la température minimum est également comprise entre $^1/_2$ et 3° C., mais la température maximum est plus basse que chez le précédent et voisine de 28° C.

Le Sacch. Pastorianus III a le même maximum que le Sacch. Pastorianus II; mais sa température minimum est différente et comprise entre 4 et $8^1/_2$° C.

On a aussi trouvé la même température minimum chez les Sacch. ellipsoideus I et II, mais la température maximum est, chez le

premier, comprise entre $31^1/_2$ et $32^1/_2$ et, chez le second, entre 34 et 35° C.

La température optimum, voisine de 30° C. chez le Sacch. cerevisiæ I, était un peu plus basse chez le Sacch. ellipsoideus II.

Chez le Sacch. Pastorianus I, je l'ai observée dans le voisinage de 27° C., et chez les Sacch. Pastorianus II et III et ellipsoideus I, aux environs de 25° C.

Près du maximum, le développement des ascospores exigeait 30 heures ou davantage. Dans le voisinage de 25° C., il n'y avait pas grande différence dans le temps qu'il demandait chez les espèces examinées. Mais, aux basses températures, cette différence était plus marquée. Elle devient surtout très frappante lorsqu'on compare le temps du développement à $11^1/_2$° C., chez le Sacch. cerevisiæ I, avec le temps correspondant chez les autres espèces. A cette température, le Sacch. cerevisiæ I avait en effet besoin de 10 jours pour développer des ascospores, tandis que les Sacch. Pastorianus I et II en demandaient moins de 4, le Sacch. Pastorianus III, moins de 7, le Sacch. ellipsoideus I, moins de $4^1/_2$ et le Sacch. ellipsoideus II, moins de $5^1/_2$. Ici comme partout, ce sont seulement les points des courbes trouvés par une recherche directe qui ont servi à faire ces comparaisons.

Si toutes les séries d'expériences avaient été faites aux mêmes températures, on aurait sans doute pu établir d'autres comparaisons instructives de ce genre. Mais comme je me suis servi du grand thermostat de M. Panum (décrit dans le 1er vol. de ce Compte-Rendu, p. 27), cela n'était pas possible, et, sans cet appareil, je n'aurais pas été en état de terminer cette recherche dans un temps raisonnable; car, d'une part, le nombre des expériences était grand et la plupart, comme le montrent les tableaux, ont duré plusieurs jours — à la limite du minimum, elles ont même été poursuivies pendant 2 mois — et, de l'autre, j'ai opéré à un nombre assez notable de températures entre 0 et 38° C. Dans ces conditions, il ne pouvait donc guère être question de disposer un thermostat particulier pour chaque température, et, relativement à la détermination des courbes, cela n'a d'ailleurs aucune influence.

J'ai dit plus haut que la levûre employée dans les cultures des ascospores se composait toujours non seulement de cellules jeunes et vigoureuses, mais aussi de cellules engendrées dans les mêmes conditions. Comme on se rappelle, elle était d'abord cultivée dans du moût à la température d'un appartement, et, dans le produit de cette culture, on prenait ensuite quelques cellules jeunes pour les porter dans un nouveau moût de la même qualité que le premier (env. 14 % Ball.). On se servait toujours des ballons Pasteur à deux tubulures. Les dernières cultures se faisaient à c. 27° C. et duraient 1 jour environ. Tous ces détails ont leur importance. Les expériences ont en effet montré qu'il y a une différence sensible dans les résultats obtenus, suivant que la levûre, qui est ensemencée sur des blocs de plâtre, a été cultivée à 27° C. pendant 1 ou 2 jours. Dans les deux cas cependant, les cellules engendrées paraissent jeunes et vigoureuses et ont tout à fait le même aspect. Le tableau

suivant montre la marche que suit le développement des ascospores, lorsque la levûre du Sacch. Pastorianus I, employée dans les cultures sur le plâtre, a été cultivée pendant 2 jours à la température indiquée.
A 29° C. aucun développement d'ascospores.
- 28° C. apparition des premiers rudiments distincts au bout de 36 h.
- 27° C. . . . . 29 -
- 23° C. . . . . 30 -
- 15° C. . . . . 54 -

Si l'on compare ce tableau avec celui de la page 33, qui montre la marche du développement lorsque la levûre employée provient d'une culture poursuivie seulement pendant 1 jour à la température ci-dessus indiquée, la différence apparait tout de suite. Chez les cellules cultivées pendant 2 jours, le développement des ascospores s'arrête déjà entre 28 et 29° C., tandis que les cellules dont la culture n'a duré que 1 jour en produisent encore à $29^1/_2—30^1/_2$° C. A 28° C., les cellules de la première catégorie demandent 36 heures, et celles de la seconde, seulement un peu plus de 24 heures pour développer des ascospores. Les premières n'ont en outre produit, à cette température, qu'un petit nombre de spores, tandis que les secondes en ont donné en abondance. C'est sans doute la proportion plus grande d'alcool due à la fermentation prolongée, qui affaiblit peu à peu la puissance de cette reproduction.

Ces observations donnent lieu de rechercher quelles sont les conditions les plus favorables au développement des ascospores. Il est probable que les différentes espèces ce comportent aussi différemment sous ce rapport. Mais cette recherche est un peu en dehors du plan de ce travail, et c'est pourquoi je la renverrai à plus tard.

Même en prenant les précautions mentionnées plus haut, et en veillant à ce que les expériences dont les résultats doivent être comparés se fassent exactement dans les mêmes conditions, il se produit cependant toujours de petites différences. J'ai donc eu soin de répéter plusieurs fois chaque série d'expériences, et les nombres indiqués sont les moyennes de 3—4 séries. Il est dans la nature des choses que des recherches physiologiques de cette espèce ne sauraient se faire avec l'exactitude uniforme d'une recherche purement chimique. On ne peut opérer avec un organisme vivant comme avec une matière privée de vie; car l'organisme signifie une infinité d'états divers qui peuvent chacun avoir une influence sur les résultats qu'on obtient. En d'autres termes, le même organisme, vis-à-vis des mêmes influences extérieures, peut se comporter différemment suivant l'état variable où il se trouve quand on le soumet à une expérience. Si nos recherches doivent réellement contribuer à faire découvrir des lois, il faut nous rappeler cela et chercher, au moins dans les traits principaux, à nous rendre bien compte de ce qu'elles peuvent nous donner. Aucun résultat, dans ce domaine, n'est pleinement valable dans tous les cas, mais seulement dans certaines limites, certaines conditions, non seulement en debors de l'organisme, mais aussi chez ce dernier lui-même, et c'est une chose essentielle que de les déterminer et de les indiquer aussi exactement que possible. Tout cela est en soi bien évident; cependant la plupart des travaux sur la physiologie des organismes

inférieurs dont il s'agit, se sont en général bornés à étudier l'influence des agents extérieurs, et ce n'est qu'exceptionnellement qu'on trouve des exemples d'auteurs qui ont tenu compte de l'état des organismes avec lesquels ils expérimentaient.

Les renseignements qui précèdent nous aident un peu à comprendre d'où viennent les erreurs et les opinions contradictoires qu'on rencontre si fréquemment dans les ouvrages qui traitent de la production des ascospores chez le genre Saccharomyces. M. Eidam a sans doute opéré avec de la levûre basse pure ou assez pure des brasseries; elle ne développe en général des ascospores que péniblement, et si en outre les cellules n'ont pas été jeunes ni vigoureuses, on comprend sans peine qu'il n'ait obtenu qu'un résultat négatif. Le froid nocturne ou un mode de culture mal choisi peut aussi avoir arrêté le développement. D'autres savants, qui ont obtenu un développement abondant et rapide, ont opéré avec des espèces comme le Sacch. cerevisiæ I ou avec des levûres spontanées, qui se prêtent à produire ces organes de fructification. Montrer comment, dans chaque cas, les erreurs ont pris naissance, serait le plus souvent chose impossible; cela n'a d'ailleurs pas grand intérêt.

J'ai mentionné, p. 16, que M. van Tieghem, dans un de ses mémoires, émet l'opinion singulière que la formation des ascospores est un développement pathologique dû à la présence des bactéries; mais il n'est pas difficile de ce convaincre que les choses ne se passent pas ainsi. Si, par ex., on établit avec grand soin des cultures sur des blocs de plâtre, on obtiendra en général une abondante production d'ascospores, sans que l'examen microscopique puisse faire découvrir une seule bactérie. Le résultat est le même si l'on fait l'expérience avec les lames de verre à la gélatine décrites p. 31.

Cependant, pour décider avec une pleine certitude si des cellules de levûre pures de tout mélange avec des bactéries peuvent ou non développer des ascospores, j'ai fait les expériences suivantes: un ballon Pasteur, de $^1/_8$ de litre, qui contenait un mélange stérilisé composé de moût de bière et de gélatine, fut, pendant le refroidissement, incliné de manière que la gélatine, en se solidifiant, formât une pellicule sur une grande partie de ses parois, et mis ensuite en communication avec un second ballon où se trouvait une culture à l'état de pureté de cellules jeunes et vigoureuses de Sacch. ellipsoideus I, après quoi quelques-unes de ces cellules y furent introduites avec un peu d'eau stérilisée et, à l'aide de quelques secousses, répandues en une couche mince sur la gélatine. La plus grande partie de l'eau se rassemblait au fond du ballon, au-dessous des cellules de levûre, et servait à y entretenir l'humidité nécessaire. Après avoir préparé plusieurs de ces ballons, je les exposai dans un thermostat, les uns à la température de 25° C., les autres à 17° C., et, au bout de peu de temps, ils renfermaient tous des cellules avec des ascospores, mais sans qu'il fût possible d'y découvrir une seule bactérie, même après qu'ils étaient restés longtemps dans le thermostat, et cependant les

conditions étaient très favorables. Il va sans dire que je prenais toujours les précautions nécessaires pour me mettre à l'abri des microorganismes étrangers. Une autre expérience faite avec le Sacch. Pastorianus I ou II — mes notes n'indiquent pas lequel — m'a donné le même résultat. La levûre fut versée avec de l'eau de levûre stérilisée dans un des ballons ci-dessus mentionnés et le mélange, fortement aéré pendant quelque temps avec de l'air débarrassé de tout organisme. Les cellules produisirent successivement des ascospores en assez grande abondance, mais je ne trouvai pas trace de bactéries; la température, 24° C., et le liquide nourricier étaient cependant très favorables au développement des bactéries, et elles se seraient aussi montrées s'il y en avait eu. Toutes ces expériences démontrent clairement que l'interprétation du botaniste français est inexacte.

Les ascospores résistent mieux que les jeunes cellules végétatives à un chauffage dans l'eau. Cela résulte des expériences suivantes.

Après avoir cultivé pendant quelque temps le Sacch. ellipsoideus II dans du moût de bière à la température ordinaire d'un appartement, et ensemencé des cellules jeunes et vigoureuses provenant de cette culture dans un moût semblable au premier, j'exposai ces dernières pendant 2 jours à une température de 27° C., et plongeai une partie des cellules de levûre produites dans cette nouvelle culture dans de l'eau distillée stérilisée chauffée à 54° C. Elles étaient encore vivantes après y avoir séjourné 5 minutes; mais, dans les mêmes circonstances, elles n'ont pu supporter de rester 5 minutes dans de l'eau chauffée à 56° C.

Des ascospores complètement mûres, développées à 17—18° C., et en partie séchées pendant 8 jours à cette température sur des blocs de plâtre, ont, dans les mêmes conditions, résisté à un séjour de 5 minutes dans de l'eau à 62° C., mais non à un séjour de même durée dans de l'eau portée à 66° C.

J'ai fait des expériences analogues avec le Sacch. cerevisiæ I; elles montrent que les cellules végétatives, cultivées de la même manière que celles de l'espèce précédente, ne peuvent supporter pendant 5 minutes qu'une température de 52° C.; au bout de ce temps, dans de l'eau chauffée à 54° C., elles étaient mortes.

Les ascospores de cette espèce, traitées de la même manière que les précédentes, sont restées vivantes après avoir séjourné 5 minutes dans de l'eau à 58° C., mais non après le même temps dans de l'eau à 62° C.

Ces expériences ne nous apprennent pas seulement que les spores complètement mûres supportent dans l'eau une température plus élevée que les jeunes cellules végétatives, mais prouvent en même temps que la résistance à la chaleur et des spores et des cellules végétatives varie suivant les espèces. Qu'il y ait aussi des espèces qui se comportent de la même manière sous ce rapport, j'ai tout lieu de le supposer.

De même que dans les expériences sur le développement des ascospores, l'état des cellules avec lesquelles on opère a également ici une grande influence. Le résultat est, par ex., très différent suivant qu'on s'est servi de vieilles ou de jeunes cellules. J'en ai eu un frappant exemple dans mes recherches sur le Sacch. ellipsoideus II. Comme comparaison avec les expériences ci-dessus décrites, faites avec de jeunes cellules d'une culture datant seulement de 2 jours, j'en ai exécuté une parallèle avec des cellules d'une culture semblable, mais vieille de $2^{1}/_{2}$ mois. Ces cellules ont résisté à un séjour de 5 minutes dans de l'eau chauffée à 60^{0} C., et il n'est même pas probable que la limite mortelle ait été atteinte. Dans la levûre de dépôt, on a trouvé de nombreuses cellules de la „levûre aérobie“ fortement développée à la surface de la bière. Je n'ai pas encore recherché si ce sont ces dernières cellules ou celles de la levûre de dépôt qui ont supporté cette haute température. Mais ces expériences se poursuivent au laboratoire, et j'espère pouvoir, en son temps, donner des renseignements plus précis tant sur cette question que sur d'autres qui s'y rattachent.

La température exerce également sur le bourgeonnement une influence variable suivant les espèces. Les recherches que j'ai faites jusqu'ici sur cette question m'ont principalement montré que les températures maxima des espèces ne sont pas les mêmes. On pourra donc, par cette voie, trouver aussi des caractères. On en obtiendra également par une étude attentive des transformations chimiques que les Saccharomyces, dans les mêmes conditions, peuvent provoquer dans un liquide nourricier. C'est ce que j'ai constaté dans mes recherches sur le Sacch. apiculatus, et des observations dans ce sens relatives à d'autres espèces se trouvent tant chez M. Pasteur que dans mes précédents mémoires et dans celui qu'on trouvera plus loin sur des maladies de la bière.

Pour terminer ce sujet, je mentionnerai encore un intéressant exemple de l'action de la température sur les cellules du Sacch. cerevisiæ (levûre basse des brasseries).

Dans ses „Études sur la bière“, p. 191, M. Pasteur dit de cette levûre qu'après avoir été laissée des mois entiers dans de l'eau sucrée, ou dans la bière qu'elle a formée par sa fermentation, elle ne tend pas, comme le Sacch. Pastorianus, à produire des cellules allongées lorsqu'on la cultive dans un bon liquide nourricier, par ex. du moût aéré, mais qu'elle développe au contraire des cellules de forme normale. Cela n'est pas tout à fait exact. Le résultat est en effet tout différent suivant que la nouvelle culture dans le moût se fait à une température élevée ou à une basse température. C'est ce que prouve l'expérience suivante.

Après avoir cultivé, pendant une année, des cellules de Sacch. cerevisiæ (levûre basse des brasseries) dans une dissolution de saccharose, qui était souvent renouvelée dans les premiers temps, je semai une petite portion de cette levûre épuisée dans deux ballons avec du moût, qui furent ensuite exposés dans le thermostat, l'un à 27^{0} C. et l'autre à $7^{1}/_{2}{}^{0}$ C. Deux jours s'étaient à peine écoulés que la fermentation se déclarait dans le premier. L'examen microscopique fit

voir que les cellules nouvelles avaient pour la plupart la forme normale; elles étaient en effet le plus souvent ovales, rarement en forme de boudin, et se montraient soit isolées soit en petites colonies. Quant au ballon qui avant été exposé à une basse température, il ne montra des signes de fermentation qu'au bout de 14 jours, et les cellules nouvelles avaient un aspect tout à fait insolite; leur pouvoir réfringent était plus faible que d'ordinaire et, relativement à la forme, elles avaient subi une transformation très frappante. En effet, les cellules allongées étaient maintenant nombreuses, et il n'était pas rare qu'elles formassent des colonies ramifiées et enchevêtrées, ressemblant à du mycélium. En un mot, elles ne répondaient plus du tout à l'image qu'on se fait en général du Sacch. cerevisiæ, mais ressemblaient complètement aux dessins que M. Pasteur a donnés du Sacch. Pastorianus dans son livre précité, par ex. Fig. 33, 34, 36 et 37, p. 171—175. Une expérience analogue faite avec de la levûre de dépôt qui avait séjourné quelques mois dans de la bière m'a donné le même résultat. Dans les deux cas, j'ai opéré avec des cultures parfaitement pures. La vieille levûre épuisée cultivée dans du moût, a ainsi développé à $7^1/_2{}^0$ C. une végétation dont les cellules avaient un tout autre aspect que celles qui s'étaient formées à 27^0 C.

Récapitulation.

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons fait une étude détaillée de la littérature concernant les ascospores chez le genre Saccharomyces. Nous nous proposons d'en récapituler ici en peu de mots les points principaux, en y joignant un résumé des recherches nouvelles qui font l'objet de ce mémoire.

Relativement a la communication de M. Engel sur un développement particulier de spores chez le Sacch. apiculatus, nous avons constaté qu'elle repose sur une erreur et que son nouveau genre, Carpozyma, ne peut par conséquent être reconnu. Les recherches de M. Brefeld sur les rapports entre la levûre de l'industrie et la levûre spontanée sont, nous l'avons vu, manquées, et la théorie qu'il a fondée là-dessus n'est par suite pas soutenable. Il en est de même de la nouvelle interprétation que M. van Tieghem a donnée des ascospores. La nouvelle méthode technique de M. Wiesner s'est également montrée inexacte.

Le résultat certain des travaux que nous avons examinés est dû principalement à M. Reess et se borne à ce renseignement, que des espèces du genre Saccharomyces, dans certaines conditions encore superficiellement connues, peuvent produire des cellules endogènes, et que celles-ci, cultivées dans un liquide nourricier convenable, se développent en cellules végétatives bourgeonnantes. Le mémoire de M. Engel nous a enseigné une méthode perfectionnée pour entreprendre des cultures d'ascospores.

En examinant les méthodes que M. Pasteur, dans son célèbre ouvrage sur la bière et ses maladies, a employées pour l'étude des

espèces du genre Saccharomyces, nous sommes arrivé à reconnaître qu'elles sont insuffisantes et que, par la voie qu'il a suivie, on ne peut sortir du vague et de l'incertain. Relativement à l'importante question des cultures à l'état de pureté, nous avons vu que, tandis qu'il en a résolu un des côtés avec un rare degré de perfection, il n'a, en revanche, fait que peu de chose pour l'autre. Il nous a donné d'excellentes indications pour préserver les cultures de l'invasion de tout organisme étranger pendant la durée des expériences, mais les méthodes qu'il emploie pour obtenir des cultures de Saccharomyces à l'état de pureté sont défectueuses, et ne peuvent, dans la plupart des cas, conduire au but. Telle est la cause du manque de clarté et des défauts par lesquels pèche, sous quelques rapports, son traitement des levûres alcooliques.

Nous avons constaté que ni la forme, ni les dimensions, ni l'aspect, ni les ascospores des cellules des Saccharomyces ne sont par eux-mêmes suffisants pour fournir des caractères spécifiques, et qu'il est possible, en employant un traitement convenable, de faire développer par une des espèces des formes qui peuvent être rapportées à toutes les species à ascospores citées par M. Reess. Pour le moment, c'est encore une question non résolue si les formes qui y appartiennent constituent une ou plusieurs species. Ce système ne nous donne donc pas non plus de guide sûr.

Les recherches devaient par conséquent être reprises à de nouveaux points de vue, et le problème à résoudre, devenir celui-ci: d'abord perfectionner la méthode de manière à pouvoir obtenir des cultures provenant chacune d'une seule cellule, ensuite rechercher si ces cultures présentent des caractères constants et, dans ce cas, les déterminer.

Il est évident qu'en diluant suffisamment un liquide qui renferme des cellules d'un microorganisme, il arrivera un moment où une certaine mesure du mélange dilué, en y supposant les cellules uniformément réparties, ne renfermera qu'une seule cellule.

La plupart des cultures à l'état de pureté employées dans les expériences qui précèdent ont été préparées en introduisant une petite portion de levûre dans une quantité d'eau pesée à l'avance. Le nombre des cellules était ensuite déterminé à l'aide de l'hématimètre, après quoi on diluait le mélange de manière qu'il ne renfermât définitivement qu'un très petit nombre de cellules, par ex. une demi cellule par centimètre cube. En en versant alors 1 c. c. dans chacun d'un certain nombre de ballons qui renfermaient du moût de bière, il y avait une certaine probabilité que quelques-uns d'entre eux recevraient chacun une cellule.

Dans la deuxième partie, où la portée de la méthode a été examinée, nous avons toutefois trouvé qu'elle n'était pas toujours d'accord avec le calcul. L'eau servant à l'ensemencement ne renfermait, par ex. quelquefois, aucune cellule, et d'autres fois, au contraire, elle en contenait plus que le calcul n'avait indiqué. On évite cet inconvénient en employant ma lame de verre décrite p. 24.

Comme il a été dit plus haut, nous avons seulement une certaine probabilité que quelques-uns de nos ballons ensemencés ont reçu

chacun une cellule. Il s'agissait donc de trouver un caractère qui permît de distinguer ces ballons des autres. Ce caractère important nous a été fourni par le nombre des taches de levûre qui se forment sur les parois des ballons (voir p. 25).

Nous avons obtenu un autre contrôle en mélangeant dans un de nos ballons avec de l'eau deux espèces connues (le Sacch. apiculatus et le Sacch. cerevisiæ) qui, par leur forme, peuvent facilement être distinguées l'une de l'autre. L'expérience terminée, elles étaient de nouveau séparées et on les a trouvées, chacune à part, dans ceux des ballons renfermant un liquide nourricier qui avaient été ensemencés, preuve évidente de la bonté de la méthode.

On a également employé la méthode exposée notamment par M. Koch pour préparer à l'état de pureté des cultures de microorganismes, et elle a, comme les autres, été soumise à une épreuve expérimentale à l'aide de la levûre caractéristique, en forme de citron, du Sacch. apiculatus. Nous avons reconnu par là que les taches qui se développaient renfermaient bien en général une seule espèce, mais que ce n'était nullement toujours le cas. Il restait donc à chercher comment on pourrait éviter ces exceptions. Il se présente ici deux moyens. On peut répéter l'expérience avec des cellules d'une des taches développées, et si, la première fois, on n'a pas obtenu un ensemencement d'une seule cellule, il est probable qu'on sera plus heureux la seconde. Mais, comme nous l'avons vu, le but ne sera pleinement atteint que si l'on entreprend la culture dans une chambre humide, et y observe le développement provoqué par une seule cellule.

Dans des recherches qui, comme celles-ci, s'étendent sur un espace de plusieurs années, il importe de trouver des moyens de conservation commodes, à l'aide desquels les cellules puissent être maintenues longtemps vivantes et à l'abri de toute infection. J'ai obtenu ce résultat au moyen du liquide décrit p. 29 et du séchage avec du papier brouillard, p. 29.

Le présent mémoire comprend principalement une série de recherches sur la formation des ascospores. Pour les cultures qui s'y rapportent, on a ordinairement employé les blocs de plâtre de M. Engel. Nous avons vu aussi que les lames de verre porte-objet, recouvertes d'une couche de gélatine, offrent un moyen commode de faire ces cultures lorsque la température à laquelle on opère n'est pas trop élevée, et enfin qu'on peut également provoquer ce développement dans l'eau de levûre aérée.

Les figures, sur la planche III ci-jointe, nous montrent des exemples des formes particulières de développement que nous avons appelées formations cloisonnées. On y a également représenté des cellules qui renferment des ascospores en nombre plus grand que le chiffre normal, savoir 5—10. Comme on l'a vu, ce sont surtout les espèces du groupe Pastorianus qui, sous ce dernier rapport, ont de la tendance à sortir de la règle. Du reste, ces figures nous apprennent de nouveau que les mêmes groupements et les mêmes dimensions peuvent se retrouver chez toutes les espèces examinées, et qu'on ne saurait par cette voie obtenir des caractères spécifiques.

Nous avons alors posé autrement la question, en recherchant l'influence de la température sur la marche du développement, et cette étude nous a fourni des précieux renseignements.

Elle nous a montré qu'aucune de nos six espèces, dans les conditions données des cultures, ne développait des ascospores à une température plus basse qu'entre $^1/_2$ et 3° C., et que la température la plus élevée à laquelle elles se produisaient est voisine de $37^1/_2$° C. Les courbes des températures ont, dans les six cas, une forme analogue. A partir des ordonnées correspondant aux températures les plus basses, elles descendent vers l'axe des abscisses et remontent ensuite un peu. Mais les points déterminés par les températures maxima et minima fournissent de bons caractères distinctifs des espèces.

Il est probable qu'une recherche comparative analogue pourrait également apporter quelques éclaircisssements sur le groupe des bactéries. Ma première communication de 1882 a déjà attiré sur ce point l'attention de quelques savants, mais il n'a pas encore été publié de recherches à ce sujet. Peut-être qu'une pareille recherche rencontrera des difficultés plus grandes que celles que j'ai eu à surmonter.

En considérant le temps que les six espèces demandent, à température égale, pour développer des ascospores, nous avons trouvé qu'il y a également des différences sous ce rapport, comme le montre, par ex., notre expérience comparative à $11^1/_2$° C.

Nous avons fait observer que, dans les recherches de ce genre, il ne suffit pas de tenir compte seulement de l'influence des agents extérieurs, mais qu'il faut en même temps veiller à ce que les cellules des espèces avec lesquelles on expérimente soient engendrées dans les mêmes conditions.

Nous avons vu aussi que, dans d'autres cas, il y a une différence dans la manière dont les espèces réagissent contre la température.

Le Sacch. ellipsoideus II supporte ainsi dans l'eau une température plus élevée que le Sacch. cerevisiæ I., aussi bien lorsqu'on opère avec les spores de ces deux espèces qu'avec leurs jeunes cellules végétatives. Les ascospores mûres de la même espèce résistent mieux à la chaleur que les toutes jeunes cellules végétatives.

Relativement au bourgeonnement, nous avons également constaté que la température exerce une influence différente sur les diverses espèces.

Les expériences décrites en dernier lieu montrent enfin, par un intéressant exemple, comment la température, dans certains cas, peut déterminer la forme de la cellule.

Nos expériences se sont ainsi étendues à des questions connexes, et par là le contenu de ce mémoire est, à proprement parler, devenu une contribution à une recherche générale sur l'influence que la température exerce sur les Saccharomyces dans les conditions différentes où ils se trouvent placés, mais toujours spécialement au point de vue de la question principale, posée dès l'origine, des espèces et de leur délimitation.

Explication des Planches.

Les deux Planches avec des courbes.

Ces courbes ont pour abscisses les températures et pour ordonnées les espaces de temps que le développement des ascospores exige pour se produire à ces températures.

Planche I.

Saccharomyces cerevisiæ I. p. 33 et 37—38.
Saccharomyces Pastorianus I. p. 33 et 37—39.
Saccharomyces Pastorianus II. p. 34 et 37—38.

Planche II.

Saccharomyces Pastorianus III. p. 34 et 37—38.
Saccharomyces ellipsoideus I. p. 35 et 37—38.
Saccharomyces ellipsoideus II. p. 35 et 37—38.

Planche III.

Le grossissement lin. de toutes les figures est de 1000 fois env. *a*, cellules avec des formations cloisonnées; *b*, cellules qui renferment des ascospores en nombre plus grand que le chiffre normal; *c*, cellules avec des rudiments distincts d'ascospores; c'est cette phase du développement qui a été employée pour déterminer le temps que ces organes demandent pour se former aux différentes températures.

Fig. 1. Saccharomyces cerevisiæ I. p. 32.
— 2. Saccharomyces Pastorianus I. p. 33.
— 3. Saccharomyces Pastorianus II. p. 34.
— 4. Saccharomyces Pastorianus III. p. 34.
— 5. Saccharomyces ellipsoideus I. p. 35.
— 6. Saccharomyces ellipsoideus II. p. 35.

III.

Sur les Torulas de M. Pasteur.

Lorsqu'on poursuit pendant longtemps des recherches étendues sur les Saccharomyces, on ne peut éviter de rencontrer souvent les cellules ressemblant à des levûres que M. Pasteur, dans son livre sur la bière et ses maladies, a appelées Torulas; elles sont très répandues et appartiennent, comme nous le verrons, à plusieurs espèces. Pour obtenir quelque certitude dans ce domaine, il est nécessaire, au moins dans une certaine mesure, de soumettre ces cellules à une étude approfondie. Dans le 1er vol. 4e liv. de ce Compte-rendu, j'ai publié quelques renseignements à ce sujet; mais, depuis lors, j'ai augmenté le nombre de mes observations et ajouté de nouvelles contributions aux résultats communiqués par M. Pasteur, et, comme je ne reprendrai pas de sitôt ces recherches, je me propose aujourd'hui

de donner un exposé de ce que nous savons pour le moment sur ces formes.

Sur la Pl. III de l'ouvrage cité, M. Pasteur a représenté deux formes de son Torula, une assez grande et une petite, mais toutes les deux sphériques, et dans sa Fig. 12, p. 75, nous retrouvons en partie les mêmes, en partie des colonies de cellules allongées et en forme de boudin en train de bourgeonner. Toutes ces figures ont une grande ressemblance avec les Saccharomyces, et les cellules allongées peuvent en même temps, par leur forme, être rapportées au Dematium ou à des moisissures analogues. De ce que les Torulas ne produisent qu'une très petite quantité d'alcool, même après avoir séjourné longtemps dans un liquide nourricier fermentescible, M. Pasteur conclut qu'ils n'appartiennent pas aux espèces proprement dites du genre Saccharomyces. Il est enclin à croire qu'ils doivent être rapportés au Sacch. Mycoderma (Mycoderma vini).

J'ai observé 5 espèces différentes de petites cellules rondes, ressemblant à des levûres, comme celles que M. Pasteur a représentées sur sa Pl. III.

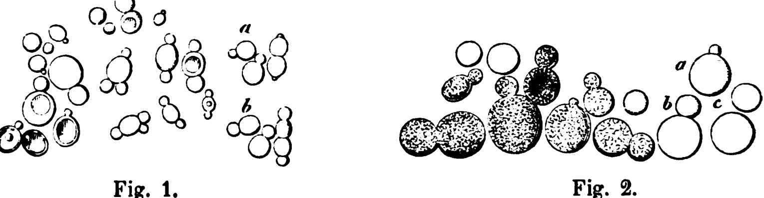


Fig. 1. Fig. 2.

La Fig. 1 en représente une. Si l'on cultive ces cellules dans du moût de bière, elles y vivent ou isolées, ou réunies en petites colonies. Dans ce dernier cas, elles forment souvent des chaînes de 3—4 cellules. Lorsqu'elles ont des vacuoles, on en trouve ordinairement une grande au centre de la cellule, et y observe quelquefois un petit grain très réfringent. Les cellules mesuraient $1^1/_2$—$4^1/_2$ micromillim.

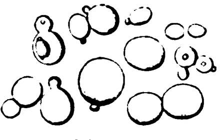
La Fig. 1 *a* montre quelques cellules qui commencent à bourgeonner, et en *b* on voit les mêmes cellules à peine 1 heure plus tard. Elles ont été cultivées dans du moût de bière, dans la chambre de Ranvier, à la température ordinaire d'un appartement. Après un très long séjour dans du moût, et dans des dissolutions de sucre, elles n'ont produit qu'une quantité à peine sensible d'alcool, sans la moindre trace d'écume. Elles ne séparent pas l'invertine.

Dans la Fig. 2, est représentée une espèce dont les cellules, lorsqu'on les cultive dans les mêmes conditions que les précédentes, deviennent plus grandes que ces dernières; elles mesuraient en effet 3—8 micromillim. Dans les cultures au moût, leur protoplasme devenait souvent grumeleux et renfermait de petits grains fortement réfringents. Du reste elles se comportaient comme l'espèce précédente.

La Fig. 2 *a* représente une cellule qui a poussé un petit bourgeon; en *b* et en *c*, on voit la même cellule respectivement $1^{1}/_{2}$ et $3^{1}/_{2}$ heures plus tard. L'expérience a été faite dans la chambre de Ranvier de la même manière que pour l'espèce précédente.

Une troisième espèce qui, quant à l'aspect et à la grandeur, ressemble beaucoup à celle de la Fig. 2, a, dans des cultures semblables dans du moût (14 $^{0}/_{0}$ Ball.), donné jusqu'à $^{7}/_{8}$ de vol. $^{0}/_{0}$ d'alcool; à la surface du liquide en fermentation, on a observé dans ce cas une formation faible mais distincte d'écume, et les analyses ont démontré qu'il s'était dégagé de l'acide carbonique. Après avoir séjourné 16 jours, à la température ordinaire d'un appartement, dans une dissolution de saccharose, elle ne l'avait pas encore intervertie.

La forme représentée Fig. 3 était, au point de vue de la grandeur, intermédiaire entre celles décrites plus haut; ses cellules mesuraient en effet 2—6 micromillim. Au point de vue physiologique, elle se distinguait essentiellement des précédentes, car elle intervertissait la saccharose et provoquait dans le moût (14 $^{0}/_{0}$ Ball.) et les dissolutions de sucre une fermentation assez énergique (un peu plus de 1 vol. $^{0}/_{0}$), avec formation de beaucoup d'écume.


Fig. 3.

Les 4 espèces ci-dessus décrites ont cela de commun que, cultivées sur des blocs humides de plâtre, des tranches de pommes de terre et des couches de gélatine avec différents liquides nourriciers, elles ne développent ni ascospores ni mycélium, mais, comme dans les liquides sucrés, ne se multiplient que par bourgeonnement.

Dans aucun des liquides employés pour les cultures (moût, bière, eau de levûre, dissolutions de dextrose et de saccharose), elles n'ont formé de membranes comme le Sacch. Mycoderma.

Au bout de quelques mois, il se forme dans les cultures au moût des membranes analogues à celles qui sont ordinaires chez les espèces du genre Saccharomyces („levûre aérobie“ de M. Pasteur). Mais elles sont d'une tout autre nature que les membranes du Mycoderma et il ne faut pas les confondre. Dans les formations des „levûres aérobies“, les cellules de notre troisième espèce étaient souvent allongées; celles des autres espèces avaient au contraire l'aspect ordinaire.

Lorsque les espèces ci-dessus décrites, après avoir été longtemps soumises dans la saccharose à un régime débilitant, étaient semées dans du moût, elles s'y multipliaient comme d'habitude par bourgeonnement, et les cellules nouvelles étaient sphériques comme auparavant, sans manifester aucune tendance à prendre une forme allongée, ce qui est au contraire ordinaire chez certaines espèces de Saccharomyces.

Que, parmi ces formes, que M. Pasteur a appelées Torulas, il s'en trouve réellement qui produisent des membranes et qui, par conséquent, ressemblent sous ce rapport au Sacch. Mycoderma, c'est ce que j'ai souvent eu l'occasion d'observer dans le cours de la dernière année. L'une d'elles, que j'ai spécialement examinée, ressemblait surtout à la Fig. 1. Semée dans du moût, de l'eau de levûre, de la

bière de garde ou même dans des liquides nourriciers fortement alcooliques (10 vol. °/o), elle développait rapidement, à la température ordinaire d'un appartement, une membrane unie, terne, grisâtre, qui s'étendait sur toute la surface du liquide. Sur les dissolutions de saccharose, elle ne formait qu'une membrane faiblement développée, et elle intervertissait ce liquide.

Après avoir été cultivée plusieurs mois dans la saccharose, elle fut semée dans du moût, où elle produisit aussi de vigoureuses végétations, mais seulement formées de cellules rondes. Elle ne provoqua pas de fermentation sensible et, même après une très longue culture dans le moût, on eut de la difficulté à y découvrir de faibles traces d'alcool.

Dans les cultures sur des blocs de plâtre, des tranches de pommes de terre et de la gélatine nutritive, elle n'a développé ni ascospores ni mycélium. Elle a conservé, en un mot, sa forme ronde dans tous les modes de culture.

Il va sans dire que les expériences ci-dessus mentionnées ont été faites avec des cultures à l'état de pureté, et que les liquides employés étaient stérilisés. Les figures montrent toutes les cellules dont il s'agit avec un grossissement linéaire de 1000 fois.

Malgré les différences physiologiques que présentent ces cinq espèces, il n'est pas possible, à l'aide du microscope seul, de les distinguer les unes des autres. Elles sont incolores aussi bien à la lumière réfléchie que transmise, et, vis-à-vis des réactifs microchimiques, elles se comportent identiquement et de la même manière que les espèces du genre Saccharomyces qui ont été examinées sous ce rapport.

Comme il a été dit plus haut, ces cellules de Torulas sont très répandues. Dans les recherches que j'ai faites, pendant les années 1878—1881, sur les microorganismes de l'air à Carlsberg et aux alentours, elles ont été fréquemment observées aussi bien dans l'intérieur des bâtiments qu'à l'air libre. Je les ai souvent trouvées dans des fleurs et sur d'autres organes végétaux, de même aussi que sur des raisins mûrs, dans les Vosges, pendant les vendanges de 1881, et dans la terre des jardin et des champs. On les rencontre très ordinairement dans les poils des abeilles et des bourdons hivernés et dans les demeures de ces insectes.

Par suite de leur grande ressemblance extérieure avec des cellules rondes des espèces du genre Saccharomyces, elles peuvent facilement être confondues avec ces dernières. De pareilles erreurs ont aussi souvent été commises. Il est surtout facile de se tromper avec des formes telles que la quatrième dans notre description précédente, qui ont une puissance fermentative assez développée.

Le seul caractère que nous puissions, pour le moment, établir ici est la formation des ascospores. On ne le trouve pas chez nos cellules de Torulas, et c'est pourquoi nous ne les rangeons pas dans le genre Saccharomyces. Les Torulas étudiés par M. Pasteur ne produisaient, on se le rappelle, aucune fermentation alcoolique ou n'en donnaient tout au plus qu'une extrêmement faible, et il en a conclu qu'ils ne pouvaient être rapportés au dit genre. Mais nous avons vu dans ce qui précède que, parmi ses Torulas, il y a une

série de formes douées d'un pouvoir fermentatif plus ou moins développé, et qui constituent toute une échelle, à partir du point où il n'est pas possible d'observer avec certitude quelque fermentation alcoolique jusqu'à celui où elle se manifeste avec assez d'énergie. Par cette voie, on ne peut donc trouver aucune limite. En établissant la formation des ascospores comme caractère distinctif, il ne faut pas oublier que, parmi les espèces qui sont en général rapportées au genre Saccharomyces, il s'en trouve une, le Sacch. Mycoderma, dont on ne sait pas au juste si elle peut ou non développer des ascospores, et une autre, le Sacch. apiculatus, chez laquelle il a été maintenant constaté que ces organes ne se développent pas, du moins dans les mêmes conditions que chez les espèces examinées jusqu'ici. Mais, pour le moment, une réforme de la classification et une introduction de nouveaux noms seraient prématurées; il faut attendre pour cela que toutes les recherches nécessaires aient été exécutées.

Dans les cultures nombreuses et variées que j'ai faites avec les cinq espèces décrites plus haut, il ne s'est jamais produit aucun signe qui indiquât, comme M. Pasteur est disposé à le croire, qu'elles seraient des formes du Sacch. Mycoderma. Il est aussi plus vraisemblable qu'elles sont des états de développement d'autres champignons. Il y a en effet beaucoup d'exemples que des champignons appartenant à différents groupes systématiques peuvent développer des cellules ressemblant à des Saccharomyces; M. de Bary l'a constaté, par exemple, chez le Dematium pullulans et l'Exoascus Pruni et M. Zopf, chez le Fumago. Cela n'exclut pas toutefois la possibilité qu'elles soient des espèces distinctes qui ne revêtent pas d'autres formes que celles décrites par M. Pasteur et par moi.

Parmi les cellules que M. Pasteur a représentées dans la Fig. 12, il s'en trouve quelques-unes qui rappellent en partie le Sacch. Mycoderma, en partie son „Dematium levûre“. Il n'est pas invraisemblable que nous avons affaire ici avec les mêmes formes dont j'ai parlé dans ce Compte-rendu, 1er vol. 4e liv. p. 214. Ce sont des cellules plus ou moins allongées, ramifiées, incolores, qui ressemblent à certains états de développement du Dematium pullulans. Celles que j'ai examinées dans le temps ne produisaient aucune fermentation alcoolique ou n'en donnaient qu'une très faible; mais elles intervertissaient rapidement les dissolutions de saccharose.

Quant au nom même de Torula, il a la fâcheuse qualité de ne plus répondre à aucune signification déterminée, car, dans le cours des temps, il a été employé pour désigner une foule de microorganismes supérieurs et inférieurs qui diffèrent beaucoup entre eux.

Le résultat principal de ces recherches est qu'il existe dans la nature plusieurs espèces très répandues de cellules ressemblant à des Saccharomyces, dont nous connaissons, sous quelques rapports, les caractères physiologiques, mais dont nous ne savons que fort peu de chose relativement à la place qu'elles occupent dans le système. En comparaison avec les espèces du genre Saccharomyces dont l'action est la plus énergique, les formes examinées jusqu'ici par M. Pasteur et par moi ne produisent qu'une faible fermentation alcoolique (fermentation basse), et quelques-unes ne possèdent certainement pas du tout cette

faculté. Les unes intervertissent les dissolutions de saccharose et les autres, non. Parmi ces formes, il y en a au moins une qui, en opposition avec les autres décrites par moi, produit rapidement des membranes à la surface des liquides nourriciers sur lesquels elle est semée, que ces liquides renferment ou non de l'alcool.

IV.

Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques.

Parmi les maladies que les ferments alcooliques peuvent provoquer dans la bière, il y en a une qui, dans les dernières années, a attiré tout particulièrement l'attention aussi bien en Danemark que notamment en Allemagne. Elle a occasionné de grandes pertes dans beaucoup de brasseries et, malgré tout ce qui a été écrit à ce sujet, elle reste toujours encore une énigme menaçante. Je veux parler de la maladie qui est connue sous le nom de trouble de la levûre. Après que la bière basse est restée le temps voulu dans les caves de garde et qu'on a procédé au soutirage, elle est parfaitement claire et il est impossible, à l'œil nu, d'y découvrir de la levûre, mais dès que les fûts ou les bouteilles où elle a été soutirée ont été exposés pendant quelques jours à une température plus élevée que celle des caves de garde, par ex. à la température ordinaire d'un appartement, il s'y forme un précipité plus ou moins abondant de levûre, et il suffit d'une légère secousse pour qu'elle se répande dans le liquide et le rende trouble. Il y a plusieurs degrés dans cette maladie; est-elle très développée, la bière qui en est attaquée est déjà fortement chargée de levûre 1—2 jours après le soutirage, et cesse d'être potable; l'est-elle moins, la bière peut se conserver plusieurs jours, surtout si la température n'est pas trop élevée, mais jamais aussi longtemps que la bière saine.

Comme nous l'avons dit plus haut, cette question si importante pour l'industrie des fermentations a donné lieu à de nombreuses publications. Elle a été traitée dans tous les ouvrages récents sur la fabrication de la bière et discutée dans des mémoires qui ont paru dans des revues spéciales. On y a comparé les observations recueillies dans la pratique et émis des hypothèses sur la cause du mal. Quelques auteurs pensent que c'est une levûre étrangère, le Sacch. exiguus, qui provoque la maladie; d'autres supposent au contraire qu'elle est causée par une dégénération de la levûre ordinaire même des brasseries, le Sacch. cerevisiæ, qui, par suite, au lieu de développer des cellules grandes et lourdes, n'en donne que de petites et de légères.

Cette littérature, qui est l'expression des idées que des praticiens réfléchis se sont formées du phénomène, renferme de bons avis qui méritent d'être médités. Toutefois, il est évident que la question ne peut être résolue par une discussion basée sur des observations éparses, mais seulement par une recherche expérimentale conduite

avec méthode. C'est une recherche de ce genre qui est publiée ici pour la première fois.

Il y a quelques années, une des grandes brasseries de Copenhague eut le malheur de voir la maladie dont il s'agit se glisser dans son exploitation. Elle y sévit assez longtemps et causa beaucoup de dommage. C'est seulement après avoir arrêté la fabrication, et fait nettoyer à fond, peindre et vernisser aussi bien les locaux que les cuves et tout l'outillage, qu'on réussit à se rendre maître du mal, et quand l'exploitation fut reprise avec de la bonne levûre d'un autre établissement, la bière put de nouveau se conserver comme auparavant. Voulant essayer d'éclaircir, si c'était possible, ce qu'il y avait d'obscur dans cette affaire, je m'adressai au directeur de la brasserie pendant que la maladie était encore à son point culminant, en le priant de me laisser prendre de temps à autre des échantillons de la bière dans ses différents états. Ces échantillons et les renseignements que je désirais me furent communiqués avec la plus grande obligeance, et je lui en exprime ici mes remercîments.

A l'aide des méthodes exposées dans un de mes précédents mémoires, j'isolai les microorganismes qui se trouvaient dans la bière malade. J'obtins ainsi trois espèces de ferments alcooliques: le Sacch. cerevisiæ (levûre basse qui constituait la partie principale de la levûre de la dite brasserie), le Sacch. Pastorianus III (une forme de levûre haute p. 34) et le Sacch. ellipsoideus II (une forme de levûre basse p. 35).

Je cherchai ensuite à constater si la maladie était due à l'une des deux dernières levûres. Dans ce but, je disposai d'abord une série d'expériences avec 6 ballons Pasteur contenant chacun 700 cent. cub. du même moût stérilisé, et dont deux étaient marqués *A*, deux, *B* et deux, *C*. Dans chacun des deux ballons marqués *A*, je semai 1,25 c. c. de Sacch. cerevisiæ, dans chacun des deux ballons marqués *B*, 1 c. c. de la même levûre plus 0,25 c. c. de Sacch. ellipsoideus II, et dans chacun des deux ballons marqués *C*, 1 c. c. du même Sacch. cerevisiæ plus 0,25 c. c. de Sacch. Pastorianus III. La levûre employée était dans tous les cas assez épaisse et à peu près identique sous ce rapport; elle provenait de cultures à l'état de pureté faites dans les mêmes conditions et se composait de cellules jeunes et vigoureuses.

La fermentation principale, basse dans *A* et *B* et avec de faibles phénomènes de fermentation haute dans *C*, eut lieu à la température ordinaire d'un appartement, et la fermentation ultérieure, à 7° C., dans des ballons Pasteur bien remplis. Au bout de 3 mois environ, on transvasa la bière dans d'autres ballons stérilisés à deux cols, qui furent placés dans une armoire à la température ordinaire. Moins de 8 jours après, la bière de *B* et de C était fortement attaquée de la maladie désignée plus haut sous le nom de trouble de la levûre, tandis qu'au bout de 14 jours, celle de *A* était encore parfaitement saine. Par conséquent, l'une des trois levûres de la bière malade, à savoir le Sacch. cerevisiæ, donnait un produit qui pouvait se conserver lorsqu'elle était seule présente

dans le liquide en fermentation, mais la maladie se déclarait dès que l'une des deux autres espéces, n'importe laquelle, était mélangée avec la première dans la proportion indiquée.

La fermentation marchant très lentement dans les ballons Pasteur, j'ai répété l'expérience avec des bocaux cylindriques recouverts de papier à filtrer préalablement passé à travers une flamme. De cette manière, on opérait aussi dans des conditions qui se rapprochaient davantage de celles des brasseries. Des 6 bocaux employés, deux étaient marqués *A*, deux, *B* et deux, *C*, et ils renfermaient chacun 1300 c. c. du même moût stérilisé. On sema dans chacun des bocaux *A* 2,50 c. c. du Sacch. cerevisiæ ci-dessus mentionné, et dans chacun des bocaux *B* et *C*, 2 c. c. de la même levûre, plus 0,50 c. c. de Sacch. ellipsoideus II dans *B* et 0,50 c. c. de Sacch. Pastorianus III dans *C*.

Dans cette expérience, comme en général dans toutes les autres, on a eu soin de maintenir exactement *A*, *B* et *C* dans les mêmes conditions, sauf en ce qui concernait l'addition des différentes levûres sur l'action lesquelles il s'agissait de se prononcer. La fermentation principale, basse dans *A* et *B* et avec de faibles phénomènes de fermentation haute dans *C*, se fit à la température de 14—15° C. et dura 9 jours, après quoi la bière fut transvasée dans des bouteilles munies de bouchons en caoutchouc traversés par un tube recourbé qui descendait le long de leur paroi extérieure. Cette disposition avait pour but d'ouvrir à l'acide carbonique formé pendant la fermentation ultérieure une voie pour s'échapper, sans qu'on exposât en même temps le liquide à être infecté par les microorganismes du dehors. La fermentation ultérieure eut lieu à la température de 6—7° C., et, au bout de 2 mois, on transvasa la bière dans des bouteilles en verre incolore préalablement stérilisées.

Toute la bière ainsi obtenue était claire et il n'était pas possible, à l'œil nu, d'y observer de la levûre; mais après 24 heures d'exposition à la température ordinaire d'un appartement, la bière de *B* et de *C* présentait déjà des symptômes de la maladie. Celle-ci ne fit qu'augmenter de jour en jour, et le 12e jour la bière était pleine de levûre. La bière de *A*, au contraire, était encore parfaitement saine au bout de 15 jours.

J'ai obtenu les mêmes résultats en remplaçant, dans les expériences, le Sacch. cerevisiæ extrait de la bière malade par une culture pure du Sacch. cerevisiæ (levûre basse) employé dans la brasserie de Carlsberg.

Les expériences ayant ainsi montré que la maladie se déclare lorsque, à l'origine de la première fermentation, la levûre employée pour la mise en levain renferme une certaine proportion d'une des deux espèces ci-dessus mentionnées, la seconde question était de savoir comment ces ferments de maladie se comporteraient si on ne les introduisait dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale, par conséquent lorsqu'on la met dans les caves de garde.

Dans ce but, j'ai exécuté, à l'aide des ballons Pasteur, quelques expériences analogues aux précédentes. Dans une première série, les deux levûres de maladie ont été introduits au commencement et, dans

une seconde série correspondante, à la fin de la fermentation principale. Après la fermentation ultérieure, la bière soutirée des deux séries ne présentait pas trace de la maladie. Au bout de quelques jours, celle-ci se déclara comme auparavant dans la bière *B* et *C* de la première série, après qu'elle eut séjourné quelques jours dans la laboratoire; mais toute la bière de la seconde série n'en fut pas attaquée et resta claire comme la bière *A* de la première série.

Ces expériences nous donnent donc ce renseignement intéressant, que les deux ferments de maladie ne peuvent provoquer le trouble de la levûre lorsqu'ils ne sont introduits dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale.

On pourrait peut-être être tenté d'en conclure qu'il est superflu de se donner tant de peine pour nettoyer et enduire de poix les tonneaux de garde. Je dois donc rappeler que le résultat ci-dessus ne concerne que les deux levûres avec lesquelles il a été expérimenté. Mais, comme mes recherches antérieures l'ont constaté, il peut apparaître dans les tonneaux de garde, outre ces deux formes, divers autres microorganismes qui sont en état de provoquer dans la bière des maladies tout aussi graves que celle qui nous occupe.

Pour soumettre le résultat qui précède à une épreuve faite dans les conditions de la pratique, j'ai répété la même expérience avec de la bière de garde ordinaire et de la bière d'exportation prises dans les caves de fermentation de la brasserie de Carlsberg au moment où, la fermentation principale étant terminée, elles devaient passer dans les caves de garde. De chacune de ces espèces de bière, je fis remplir 3 barils, *A*, *B*, *C*, chacun de $16^1/_2$ litres, après quoi je semai dans *B* 10 c. c. d'une levûre assez épaisse de Sacch. ellipsoideus II, et dans *C* 10 c. c. d'une levûre également assez épaisse de Sacch. Pastorianus III; mais les barils *A* ne furent pas infectés. La levûre du Sacch. ellipsoideus II et celle du Sacch. Pastorianus III avaient été produites dans des cultures au moût, à la même température que les cellules de Sacch. cerevisiæ contenues dans la bière. L'expérience ayant ainsi été mise en train, les 6 barils furent placés dans une des caves de garde de la brasserie, où on les laissa $2^1/_2$ mois, par conséquent un temps relativement très court en ce qui concerne la bière d'exportation. La température de la cave était de 2° C.

On procéda alors au soutirage dans des bouteilles préalablement stérilisées, et put constater que la bière de tous les barils *A*, *B* et *C* était cependant claire et sans le moindre trouble, comme une bonne bière marchande. Après avoir été exposées pendant 12 jours à la température ordinaire d'un appartement, aucune des bouteilles ne présentait de trace de la maladie. En un mot, la bière fortement infectée se conservait tout aussi bien que la bière non infectée. Le résultat était donc le même que dans les expériences en petit faites au laboratoire.

Dans des recherches comme celles-ci, dont le but est d'intervenir directement dans la pratique, il est naturellement à désirer que les expériences soient, autant que possible, disposées dans les conditions qui se trouvent réalisées dans une exploitation industrielle. Cela n'a pas souffert de difficulté quant à la question précédente. Mais il en

est tout autrement de la première question que nous avons examinée, à savoir celle de l'infection pratiquée au commencement de la fermentation principale. Il est évident que, quelque désirable que cela fût, on ne pouvait songer à entreprendre les expériences dans la brasserie elle-même, car, suivant toute vraisemblance, la maladie aurait gagné assez rapidement toutes les caves de fermentation et occasionné ainsi de grandes pertes. Toutefois, pour me rapprocher autant que possible de la pratique des brasseries, je résolus de refaire sur une plus grande échelle mes expériences de laboratoire, de manière que la bière fermentée mise en tonneaux pût prendre place dans la cave de garde de la brasserie. Je me proposais en outre, par ces nouvelles expériences, de me procurer des renseignements sur les quantités de ferments de maladie qui doivent se trouver dans la levûre de la mise en levain pour que la maladie puisse se déclarer, et enfin sur l'influence que pouvaient exercer une atténuation plus ou moins forte de la fermentation principale et un séjour plus ou moins long dans les caves de garde.

Voici un exemple des expériences que j'ai exécutées en ayant en vue ces différentes questions.

Dans une pièce du laboratoire de Carlsberg se trouvent deux cuves à fermentation Pasteur, *A* et *B* (une copie, sous quelques rapports améliorée, de la cuve décrite dans les „Études sur la bière", p. 328) de la même grandeur et du reste semblables. La température, dans ce local, était en janvier de 7—10° C. Après avoir versé dans chacune des cuves 165 litres de moût aéré (13,5 % Ball.), le même qui est employé dans la brasserie pour la bière de garde ordinaire, on introduisit dans la cuve *A* 660 grammes d'une levûre épaisse de Sacch. cerevisiæ (levûre basse de la brasserie), et dans la cuve *B*, 644 gr. de la même levûre plus 16 gr. d'une levûre épaisse de Sacch. ellipsoideus II. Cette dernière avait été produite à la même température que le Sacch. cerevisiæ employé; les cellules des deux epèces étaient jeunes et vigoureuses. Les quantités relatives de la levûre et du moût étaient celles qu'on emploie dans la brasserie. Le moût avait une température de 7° C. au moment de la mise en levain. La mousse blanchâtre qui indique le commencement de la fermentation se montra dans les deux cuves au bout de c. 24 heures, et dans le cours de la fermentation principale, la température s'y éleva à 10° C.

Au bout de 8 jours, la quantité d'extrait était dans *A* de 7,6 et, dans *B*, de 7,5 % Ball. Les deux bières avaient le même aspect et le même goût. De la bière de chaque cuve on remplit alors un baril de 66 litres qui fut ensuite descendu dans la cave de garde, dont la température était de 2° C.

On laissa la fermentation se poursuivre dans la bière qui restait dans les deux cuves, et après qu'elle eut duré en tout 10 jours, la quantité d'extrait était de 6,7 % Ball. tant dans *A* que dans *B*. La bière avait le même aspect et le même goût que l'avant-veille; elle fut soutirée dans 4 barils plus petits, dont 2 de chaque cuve, et descendue comme les premières portions dans la cave de garde.

La bière des deux gros barils, dont la quantité d'extrait, au commencement de l'enmagasinage, était de 7,5 % Ball. environ, en

renfermait, au bout de $2^1/_3$ mois, 6 % tant dans *A* que dans *B*. On la soutira dans des bouteilles de verre incolore préalablement stérilisées, qui furent ensuite exposées dans une armoire à la température ordinaire d'un appartement. Aussitôt après le soutirage, les deux bières ne présentaient aucune trace de trouble, mais déjà au bout de 24 heures, un examen attentif pouvait en faire découvrir un commencement dans *B*, et après 5 jours la maladie y était bien distincte, tandis que la bière de *A* restait claire sans trouble de la levûre.

Les 4 petits barils, dont la quantité d'extrait, à leur entrée dans la cave de garde, était de 6,7 %, en renfermaient 3 mois après 5,9 %. La bière de *A* et de *B* paraissait être identique; elle était claire et sans mélange apparent de levûre. Comme dans le cas précédent, on soutira la bière de deux de ces barils dans des bouteilles qui furent ensuite placées dans l'armoire ci-dessus mentionnée. La maladie ne se déclara pas. Au bout de 12 jours, la bière tant de *B* que de *A* était encore claire et sans trouble de la levûre.

Les deux derniers barils restèrent de $^1/_2$ mois de plus dans la cave de garde, par conséquent en tout $3^1/_2$ mois. L'analyse avec le saccharomètre donna la même quantité d'extrait que dans les deux barils précédents. Le résultat fut aussi le même: après 16 jours, on ne distinguait encore aucune trace de la maladie. Comme on pouvait s'y attendre, la bière était plus claire que dans les cas précédents à cause de son plus long séjour dans la cave de garde.

Cette série d'expériences nous apprend que la maladie peut encore se déclarer lorsque le Sacch. ellipsoideus II constitue $^1/_{41}$, de la levûre de la mise en levain, mais seulement si la bière est conduite dans la cave de garde avec une quantité d'extrait d'au moins 7,5 % Ball., et si l'enmagasinage, dans ces conditions, prend déjà fin au bout de $2^1/_3$ mois. Par contre, si la fermentation se poursuit dans la cave de fermentation de manière que la quantité d'extrait se réduise à 6,7 %, et si l'enmagasinage dure au moins 3 mois (par conséquent le temps normal), la maladie ne se déclarera pas.

On doit donc conseiller aux brasseries dans lesquelles cette maladie s'est glissée une atténuation suffisamment forte dans la fermentation principale, et un enmagasinage qui ne soit pas trop court (au moins 3 mois pour la bière de garde ordinaire). Mais si la levûre employée pour la mise en levain renferme une quantité considérable du ferment de maladie, cela ne sera pas même suffisant.

J'ai répété l'expérience en introduisant dans la cuve *B*, au lieu du Sacch. ellipsoideus II, la même proportion de Sacch. Pastorianus III. Le résultat principal a été le même; il semble cependant que, dans cette expérience comme dans quelques autres, le premier de ces ferments est le plus redoutable des deux.

Lorsque de la bière basse normale, fabriquée avec une culture pure de Sacch. cerevisiæ, reste exposée pendant longtemps en bouteilles à la température ordinaire d'un appartement, elle forme en général un dépôt de levûre assez abondant; mais, si on la secoue, elle ne devient pas cependant trouble et opaque. Ce dépôt se divise

en effet en petits grumeaux et fragments, sans que les cellules se séparent sensiblement les unes des autres pour flotter dans le liquide, et toutes ces petites parties retombent rapidement au fond. Tout autrement se comporte le dépôt qui, en très peu de temps, prend naissance dans la bière malade, car il est sans consistance et, à la moindre secousse, remonte dans le liquide sous forme d'un nuage de cellules isolées. Si la bière est attaquée à un haut degré et qu'on la secoue fortement, elle devient aussi comme toute boueuse. En d'autres termes, la bière saine peut bien former un dépôt de levûre tout aussi grand que la bière malade, sans cesser cependant pour cela d'être potable.

Si une brasserie qui a souffert de ce mal a repris son exploitation à l'aide d'un nettoyage à fond des caves de fermentation, et après s'être procuré une levûre de bonne qualité, elle doit veiller avec soin à ce que la maladie ne soit pas ramenée par la lie des tonneaux de garde.

Dans plusieurs brasseries on ne prend aucune précaution à cet égard. La lie se répand dans les cours et est apportée directement dans les caves de fermentation, surtout par les chaussures des ouvriers, ou bien elle se dessèche au dehors et le vent en emporte les poussières sur les bacs où refroidit le moût. De là, les ferments de maladie se glissent dans les cuves de fermentation, où ils commencent à se développer. Au début, cela marche bien très lentement de sorte qu'on ne remarque aucun danger, mais peu à peu les cellules s'accumulent, et à la fin la levûre servant à la mise en levain renferme assez de levûre spontanée pour que la maladie puisse se déclarer. A partir de ce moment, elle se développe avec une rapidité extraordinaire, et toute la bière de la brasserie est bientôt de nouveau attaquée. C'est à l'occasion de cas pareils que, dans le monde des brasseries, on peut souvent entendre parler de cette maladie momme de quelque chose de mystique. „Si elle vient, dit-on, il n'y a qu'à s'incliner; essayer de la combattre ne sert de rien, c'est un malheur contre lequel personne ne peut se défendre." On change alors sa levûre, et si la nouvelle levûre de la brasserie *A* n'aide pas, on s'adresse à *B*, etc. Mais qu'il faille chercher et combattre la cause du mal dans l'exploitation elle-même, c'est à quoi l'on pense rarement.

Des espèces autres que le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II peuvent sans doute aussi provoquer dans la bière le trouble de la levûre. Dans le 1er vol. 4e liv. p. 216 de se Compte-rendu, j'ai déjà émis l'opinion que l'espèce du groupe Pastorianus dont il y est parlé, était probablement du nombre. Il peut être bon de rappeler ici que le phénomène du trouble de la levûre se manifeste sous plusieurs formes. Sous ce nom est comprise toute une série de maladies différentes.

Le Sacch. Pastorianus mentionné en dernier lieu nous a également donné un exemple caractéristique du fait, que certaines espèces du genre Saccharomyces peuvent produire une bière d'un goût désagréable pour les connaisseurs.

Il s'en faut que le trouble de la bière soit toujours dû à des organismes. Assez général est, par ex., celui qui se produit lorsque

de la bière claire, après avoir été exposée à une basse température, devient opaline, intransparente, et ne recouvre sa clarté qu'après avoir été réchauffée. Ce phénomène, on l'explique ordinairement par la circonstance que, sous l'action du froid, il se sépare des substances protéiques qui se redissolvent lorsque la bière reprend sa température primitive, mais l'aspect opalin peut aussi provenir d'autres causes et se manifester sous d'autres formes. Il a été constaté, dans certains cas, qu'en ajoutant une assez petite quantité de Sacch. Pastorianus III à la levûre employée pour la mise en levain, on pouvait empêcher la bière de devenir opaline. Ainsi, tandis que de la bière fermentée à l'aide d'une culture pure de Sacch. cerevisiæ devint fortement opaline et resta telle, même après une exposition de plusieurs jours à la température ordinaire d'un appartement, la bière correspondante, qui était préparée de la même manière avec la seule différence que la levûre de la mise en levain avait été additionnée d'une petite portion de Sacch. Pastorianus III, était parfaitement claire aussitôt après le soutirage dans la cave de garde et continua à l'être. On doit donc supposer que, pendant la fermentation ultérieure, cette dernière levûre a fait disparaître les substances qui rendaient la première bière opaline. D'autres expériences ont au contraire montré que deux levûres qui, chacune prise à part, donnaient une bière claire, produisaient par leur mélange une bière opaline. Ces questions et d'autres analogues seront successivement soumises à un examen approfondi dans le laboratoire de Carlsberg.

Les espèces du genre Saccharomyces soulèvent en somme des problèmes d'une grande importance pour l'industrie des fermentations, et offrent sous ce rapport, au moins pour le moment, plus d'intérêt que les bactéries; mais tout ce domaine est resté jusqu'à présent comme un pays presque entièrement inconnu.

Développemet et constitution de l'endosperme de l'orge.

Études anatomiques préliminaires sur la question des grains tendres.

Par

W. Johannsen.

Ces recherches n'ont porté que sur les espèces d'orge cultivées qui, dans tous les points essentiels, présentent entre elles une grande conformité. Comme matériaux, j'ai sur tout employé le Hordeum distichon; les figures sont dessinées d'après cette espèce à moins qu'une autre ne soit indiquée.[1])

Pour les préparations microscopiques de jeunes fruits, je me suis presque toujours servi de procédé de M. Strasburger: durcissement dans l'alcool absolu et traitement subséquent par la glycérine et l'alcool. Les réactifs employés, sauf mention contraire, ont été préparés d'après les indications de M. V. A. Poulsen, Microchimie végétale, Paris 1882.

L'ovaire de l'orge, comme celui des autres graminées, ne renferme qu'un ovule, qui est adhérent au côté de l'ovaire (ventral ou du sillon), qui regarde la paillette supérieure. Il n'y a donc pas de funicule proprement dit; l'ovule sessile est fixé à la paroi de l'ovaire par une ligne d'attache assez longue. Toute la partie de l'ovaire située au-dessus de la cavité ovarienne est dépourvue de chlorophylle, et garnie de nombreux poils raides, pointus, à une ou plusieurs cellules et souvent ramifiés qui la font paraître d'une blancheur éclatante, tandis que la partie de l'ovaire qui entoure la cavité ovarienne est verdâtre, par suite de la présence de quelques couches de cellules du parenchyme interne qui renferment de la chlorophylle. Ces cellules sont surtout accumulées des deux côtés de la suture ventrale et tout près de celle-ci, et c'est pourquoi cette suture paraît à l'œil nu vert foncé dans une coupe transversale, bien qu'elle soit elle-même incolore. La partie supérieure de l'ovaire est divisée par une dépression en deux parties, dont celle qui regarde la paillette

---

[1]) Relativement aus ouvrages dont je me suis servi, je dois me référer au texte danois; je n'indiquerai ici que les principaux.

supérieure est beaucoup plus haute que l'antérieure (comp. Pl. I, Fig. 1), et se divise à son tour en deux lobes, l'un à droite et l'autre à gauche, qui forment chacun un vigoureux stigmate couvert de poils pennés (comp. Fig. 2). Entre les deux parties ci-dessus mentionnées, une fente ou un canal étroit descend verticalement dans l'ovaire (Fig. 1) presque jusqu'à la cavité ovarienne.

L'ovaire est traversé de bas en haut par quartre faisceaux, dont l'un dans la partie dorsale, vis-à-vis de la suture ventrale et un peu au-dessous d'une faible sinnosité de l'ovaire (Pl. I, Fig. 3 a); les deux suivants sont situés sur les côtés de l'ovaire et vont se perdre dans les stigmates (Plan I, Fig. 2 a, Fig. 3 b, c), tandis que le premier ne monte pas si haut. Le quatrième, qui est le plus fort et présente des vaisseaux bien distincts, suit la suture ventrale en dehors de la ligne d'attache de l'ovule et parallèlement à cette ligne (Fig. 3 d). En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie arrondie et formée de petites cellules (Fig. 3 e), d'où les deus téguments de l'ovule, l'épiderme du nucelle et l'épiderme de la cavité ovarienne tirent leur origine.

L'ovule est un peu recourbé en S. En effet si, sur une coupe longitudinale (Fig. 1), on part de la ligne d'attache, il s'élève d'abord, s'infléchit ensuite vers le bas et enfin vers le côté opposé de la chalaze, le micropyle étant tourné en dehors[1]). Du sommet de l'ovule les deux téguments forment une pointe qui pénètre bien avant dans le tissu conducteur venant des stigmates (Fig. 1 et 2). Chaque tégument se compose de deux couches de cellules; cependant ils en renferment un plus grand nombre dans la pointe ci-dessus mentionnée et près du micropyle, où le tégument externe présente une grande ouverture, tandis que le tégument interne n'a qu'une petite fente (Fig. 1 m). Dans cette partie supérieure dont il vient d'être question, on ne voyait pas distinctement comment se comportaient les couches du tégument externe; la couche extérieure du tégument interne ne semblait pas s'être devisée (comp. Pl. I, Fig. 11). On trouve des caractères correspondants chez le seigle; ils sont indistincts chez le froment.

Dans l'ovaire développé, le tégument externe, déjà avant la pollinisation, est très mou et ses cellules claires, à parois minces, sont en partie vides. Il semble que ce tégument sarve à conduire le tube pollinique après qu'il a atteint la cavité ovarienne[2]). Les tissus conducteurs proprement dits descendent, en se rapprochant l'un de l'autre, des stigmates dans l'intérieur des parties qui portent ces derniers (comp. Fig. 2). Les deux tissus conducteurs se rencontrent encore dans la région postérieure de la partie supérieure de l'ovaire (comp. Fig. 1), et s'avancent ensuite ensemble vers la cavité ovarienne en

---

[1]) Cfr. Hofmeister: Neue Beiträge z. Kenntniss d. Embryoentwickelung der Phanerogamen. II Monocotyledonen (Abhdl. d. k. sachs. Gesellschaft d. Wissenschaften Bd. VII p. 651) et Payer: Organogénie de la fleur. Paris 1857 p. 703.

[2]) Holzner, Botan. Centralblatt Bd. 12, 1882, p. 107.

passant successivement dans la région antérieure de l'ovaire. La petite fente mentionnée plus haut n'est ainsi entourée à sa base que de tissu conducteur et devient ainsi moins distincte. Les cellules de ce tissu sont étroites, molles, tres allongées, à parois minces et sans trace d'amidon; à un examen superficiel, elles cachent facilement la pointe des téguments.

Avant la fécondation, on trouve dans le sac embryonnaire une vésicule embryonnaire et deux synergides assez petits et à contours un peu vagues (Fig. 12 e & s); le noyau central est distinct de même que les antipodes (Fig. 12, a), qui se développent plus vite que les cellules sexuelles; il y eu a au moins six. Après la fécondation, peut-être déjà avant, les antipodes commencent à se diviser rapidement et le nombre des noyaux augmente beaucoup; j'en ai compté 31 et peut-être y en a-t-il davantage. En même temps, le sac embryonnaire s'élargit considérablement; il croît d'abord plus d'un côté que de l'autre, comme c'est surtout le côté tourné vers la partie dorsale de l'ovaire qui s'allonge fortement en se courbant (Pl. I, Fig. 9, 10). Par suite, les antipodes se trouvent transportés sur le côté du sac embryonnaire vers le sillon.

L'endosperme commence alors à se former. Je n'ai jamais réussi à observer la division du noyau central, mais n'ai aucune raison de douter que les indications générales de M. Strasburger se confirment également ici. Le noyau central doit, par des divisions rapides et successives, donner naissance à un grand nombre de noyaux filles. Ceux-ci sont logés dans le protoplasme et tapissent la paroi interne du sac embryonnaire; les antipodes et les cellules sexuelles restent cependant entre cette paroi et le jeune endosperme. L'ovaire a alors une longueur de 3,5 millimètres environ. La Fig. 3, Pl. I, représente une coupe transversale d'un pareil grain passant par le milieu de la cavité ovarienne, et la Fig. 8, une partie de cette coupe avec un plus fort grossissement. La paroi de l'ovaire[1]) se compose ici des couches de cellules suivantes: l'épiderme, un parenchyme incolore qui renferme de petits grains d'amidon, deux (çà et là, surtout dans le voisinage de la suture ventrale, 3 ou davantage) chouches de cellules chlorophyliennes allongées en travers et enfin l'épiderme de la cavité ovarienne. Puis vient le tégument externe qui maintenant est dépéri et en pertie disparu. Par contre, les cellules du tégement interne, de même que celles de l'épiderme du nucelle, sont encore riches en protoplasme et renferment des noyaux relativement gros. En dedans de cet épiderme, on voit le reste à demi déplacé du nucelle et au fond les jeunes noyaux de l'endosperme. Toutes les parties de l'ovule, y compris les téguments et son point d'attache, sont entièrement dépourvues de grains d'amidon.

Une coupe longitudinale correspondante donne une image un peu différente. Les cellules incolores du parenchyme apparaissent

---

[1]) Comp. aussi: Kudelka, „Entwickelung u. Bau d. Frucht u. Samenschale unserer Cerealien", Berlin, 1875, et Grønlund „Om Melbyg og Glasbyg", Kjøbenhavn 1879, p. 29—32.

avec des parois assez droites; elles sont disposées en rangées longitudinales et sont un peu allongées dans le sens de la longueur de l'ovaire. Les cellules de chlorophylle paraissent par contre presque rondes. Il n'y a pas grande différence entre les coupes longitudinale et transversale des autres couches de cellules. Les noyaux de l'endosperme présentent la même image dans les deux sens.

Les cellules du parenchyme dans la paroi de l'ovaire sont, dans la phase représentée Fig. 3, beaucoup plus grandes qu'avant la fécondation et ont entre elles un peu moins de cohérence. Les cellules de chlorophylle sont également plus grandes qu'auparavant. Le tégument externe est bien plus dépéri et le faisceau vasculaire dans la suture ventrale, plus fort qu'avant la fécondation.

Si, à l'aide d'une aiguille, on étend une partie du revêtement du sac embryonnaire dans une goutte de glycérine (Plan I, Fig. 16), on voit qui la grandeur des noyaux de l'endosperme et leur distcnce mutuelle diminuent d'autant plus qu'ils sont plus voisins des antipodes (Fig. 16 a). C'est donc dans le voisinage de ces derniers que la division des noyaux de l'endosperme est le plus avancée, et c'est aussi là, par conséquent hors de la suture ventrale, que les parois des cellules se forment le plus tôt.

Pendant que le sac embryonnaire déplace de plus en plus le nucelle, le jeune endosperme poursuit son développement. L'ovaire croît en même temps, surtout en longueur (hauteur)[1]), les cellules, sauf celles des couches à chlorophylle, s'allongeant beaucoup dans cette direction.

A l'aide d'une aiguille, on peut facilement étendre dans la glycérine de grandes lamelles du jeune endosperme, et observer les différentes phases de la formation des parois des cellules. Mes observations ont toujours concordé avec les indications générales de M. Strasburger. Après la formation de leurs parois, les jeunes cellules commencent à s'allonger dans le sens radial vers la cavité du sac embryonnaire.

La Fig. 13, Pl. I, est une coupe transversale de l'endosperme d'un grain long de 4,5 millim. environ. On voit tout de suite que c'est sur le côté ventral (f), où il est en contact avec les antipodes, maintenant à moitié résorbés et non représentés sur la figure, que l'endosperme est le plus développé. La Fig. 14 montre une petite partie de la même coupe avec un plus fort grossissement. Les parois sont très minces et un peu crêpées (l'action de l'alcool). Les formes allongées des noyaux indiquent de prochaines divisions; la Fig. 17 reproduit différentes phases de la division. La jonction dite „Verbindungsfaden“ ne forme pas ici la figure ordinaire ressemblant à un tonneau.

Pendant que l'ovaire croît toujours en longueur et peu seulement en volume, le sac embryonnaire est complètement rempli par l'endosperme. La rencontre en son milieu des cellules du côté dorsal et

---

[1]) Holzner „Die Gerste“ (Der bayrische Bierbrauer, 1876, p. 200) indique plusieurs mesures qui s'accordent avec celle-là.

du côté ventral détermine la formation d'une ligne de soudure bien distincte (comp. Pl. II, Fig. 1). La partie voisine de la suture ventrale (en f) est constamment la plus développé; déjà en ce point — la longueur du grain est de 5 à 5,5 millimètres environ — la couche de cellules extérieure de l'endosperme a commencé à se différencier, elle est remplie de matière protéique et on n'y aperçoit que très indistinctement des cordons de protoplasme. Il n'y a encore pas trace d'amidon dans l'endosperme, et ce n'est qu'après plusieurs divisions de cellules qui semblent s'opérer simultanément dans l'endosperme tout entier que cette substance fait son apparition.

Le grain est alors long de 6 à 7 millim. et a commencé à croître un peu plus en volume. La Fig. 3, Pl. II, représente une coupe transversale de l'endosperme dans cette phase. La ligne de soudure est encore distincte, mais disparaît plus tard. Les grains d'amidon apparaissent d'abord dans les parties supérieures de l'endosperme, toutefois pas au sommet, à la pointe du grain. La coupe, qui passe un peu au-dessus du centre du grain, montre où prennent naissance les premiers grains d'amidon, à savoir autour de la ligne de soudure, au milieu des deux demi-longueurs du grain et dans deux parties voisines du côté ventral. On ne rencontre jamais d'amidon dans la couche extérieure de l'endosperme, mais, outre son riche contenu en protoplasme, on y trouve déjà dans cette phase un peu de matiére grasse.

La Fig. 5, Pl. II, reproduit avec un plus fort grossissement une partie de la Fig. 3. De la couche extérieure (o), dont le contenu est très abondant, dérivent les cellules à parois épaisses et sans amidon, qui sont disposées en trois rangées. Dans les cellules voisines de la ligne de soudure, qui limite la figure vers le bas, on aperçoit de petits grains dans le protoplasme qui entoure le noyau et dans les parties contiguës. L'iode[1]) ne les colore que faiblement en un bleu peu distinct. Mais si l'on emploie du chlorure de zinc iodé, les petits grains se gonflent et se colorent fortement en brun noir. La Fig. 6, Pl. II, représente quelques cellules traitées par ce réactif. Immédiatement avant que la présence de l'amidon puisse être constatée à l'aide du chlorure de zinc iodé ou de la potasse et de l'iode, le protoplasme qui entoure le noyau de la cellule est faiblement grumeleux; on a peut-être dans ces gruaux les „Stärkebildner“ de Schimper sous une forme très indistincte.

Après que l'amidon a commencé à se former dans une cellule de l'endosperme, il ne semble pas que celle-ci se divise davantage; du moins je n'ai trouvé de l'amidon dans aucune cellule de l'endosperme en train de se diviser. Par contre, les divisions se pour-

[1]) La dissolution d'iode employée a été préparée comme il suit: à 1 partis d'iode dissoute dans 20 parties d'alcool, on ajoute 80 parties d'eau et, après 1/2 heure de repos, on filtre pour séparer l'iode qui s'est précipité. Une pareille dissolution faible d'iode est souvent à préférer à une plus forte, la coloration étant beaucoup plus égale.



suivent dans les cellules qui ne renferment pas de l'amidon, surtout dans le rayon périphérique de l'endosperme.

La Fig. 7 b, Pl. III, est une coupe transversale d'un grain long de 8,5 millim. environ. En la comparant avec Fig. 7 a, on constate que ce grain a aussi beaucoup grossi. La Fig. 8, Pl. II, montre, avec un fort grossissement, une partie d'une coupe transversale d'un grain ayant 8,5 millim. de long. On voit immédiatement que la couche de cellules extérieure de l'endosperme (Fig. 5, o) s'est, par des cloisons tant tangentielles que radiales, divisée en plusieurs cellules remplies d'un contenu grumeleux. La Fig. 10 fait voir les mêmes cellules telles qu'elles se présentent dans une coupe tangentielle. Dans ce sens, elles sont disposées d'une manière très irrégulière, tandis qu'en coupe transversale et surtout en coupe longitudinale, leur arràngement est plus régulier. Elles renferment maintenant une grande quantité de substances grasses et protéiques; cependant on n'y distingue pas encore clairement des grains d'aleurone.

En dedans de ces cellules viennent les cellules amylifères. C'est vers l'intérieur de l'endosperme que se trouvent les grains d'amidon les plus âgés et les plus gros, et vers la périphérie, les plus jeunes et les plus petits. Ils sont oblongs et de forme un peu irrégulière, tandis que dans l'endosperme complètement développé ils ont une forme lenticulaire assez régulière. Les très petits grains que, dans l'endosperme tout développé, on rencontre entre les gros grains d'amidon, n'existent pas encore. Les noyaux des cellules sont maintenant trés distincts. Les cordons du protoplasme ne se voient pas distinctement sans une préparation speciale (coloration); mais si, dans une coupe, on enlève l'amidon à l'aide de l'acide azotique étendu (env. 10 %), on reconnaît facilement que tous les grains d'amidon sont logés dans le protoplasme. Les parois inclinées en dedans des cellules de l'endosperme ne suivent pas sur la figure une direction exactement radiale à partier de la périphérie. Elle reproduit en effet une partie prise sur le côté de l'ovaire et où ces parois, par suite de la croissance non homogène de l'endosperme et du renflement qui en résulte, ont été un peu rejetées hors de leur direction primitive. Mais les Fig. 5, Pl. II, et 1, Plan III, sont dessinées d'après des parties prises sur le dos du grain, et la direction primitive y est conservée.

La Fig. 9, Pl. II, est une coupe transversale de la paroi de l'ovaire, correspondant à l'endosperme de la Fig. 8. Elle représente une partie peu éloignée de la suture ventrale. Les cellules de l'épiderme ont des parois plus épaisses qu'auparavant (comp. Pl. I, Fig. 8) et se sont allongées dans le sens tangentiel. Le parenchyme incolore est devenu beaucoup plus lâche, et ses cellules se sont aussi accrues dans le même sens pendant le grossissement du grain. Une partie des cellules intérieures du parenchyme sont maintenant complètement affaissées, tandis que les cellules vertes sont encore bien remplies; la figure en montre trois couches. L'épiderme intérieur et le tégument ont disparu ou presque disparu. Le tégument interne est encore distinct, de même que les cellules de l'épiderme du nucelle dont le nombre a beaucoup augmenté. Le nucelle lui-même est entièrement refoulé par l'endosperme, excepté tout près de la ligne d'attache.

Sur le côté dorsal du grain, toute la paroi de l'ovaire est bien plus comprimée que dans la figure.

Sur les coupes longitudinales, toutes les cellules de la paroi de l'ovaire, à l'exception des vertes, sont extrêmement allongées dans le sens du grand axe du fruit. Les cellules vertes se sont peut-être divisées. Dans cette phase, tout le fruit est plus fortement coloré en vert qu'auparavant, car les cellules à chlorophylle rayonnent maintenant plus facilement à travers le parenchyme incolore, mince et transparent. Les paillettes commencent à s'attacher au fruit lui-même.

La Fig. 7, Pl. II, est une coupe longitudinale du grain entier dans la même phase. L'embryon est loin d'être développé et doit encore refouler une grande partie de l'endosperme.

Après la phase qui vient d'être décrite, dans laquelle le grain entier renferme environ 70 % d'eau et l'endosperme se présente sous forme d'un mucilage laiteux et épais, le grain s'allonge bien encore un peu, mais croît surtout en volume, notamment au milieu. Par suite d'une croissance moins rapide dans la partie voisine de la suture ventrale[1]), l'endosperme s'infléchit de manière que sa coupe transversale se rapproche de la forme d'un fer à cheval qui, plus tard, divient de plus en plus réniforme. En même temps, les cellules se remplissent toujours davantage de réserves.

Lorsque le grain a une longueur de 9 millim. environ, qu'il renferme env. 52 % d'eau et se présente en coupe transversale comme la Fig. 7 e, Pl. III, la chlorophylle a commencé à s'altérer dans les cellules de la paroi de l'ovaire. Les cellules ont un contenu plus jaunâtre, excepté des deux côtés de la suture ventrale, où la couleur verte se maintient le plus longtemps. Dans la phase représentée Fig. 7 f, où le grain renferme 40 % environ de son poids d'eau, on voit encore à droite et à gauche de la suture des taches vert olive.

Lorsque le grain est complètement développé au point de vue anatomique, on n'y trouve plus de chlorophylle; la proportion d'eau est de 30 % environ, et l'endosperme a une consistance molle, céroïde et un peu tenace. La Fig. 7 g représente une coupe transversale d'un pareil grain, et l'on voit que le sillon apparaît ici comme une ligne fine qui va jusqu'au milieu de l'endosperme. Le grain a maintenant une longueur de 9 à 9,5 millim.[2]). Cette phase est en général désignée sous le nom de „maturité jaune" („Gelbreife"). Toutes les feuilles sont flétries, les tiges sont jaunes ou fauves, avec des nœuds d'un vert olive sale, et le plus souvent complètement desséchées dans la partie supérieure voisine de l'épi. Les arêtes sont également jaunes ou fauves. La paroi de l'ovaire est très comprimée

---

[1]) On a relevé plus haut (p. 63) que c'est dans le voisinage de la suture ventrale que le développement de l'endosperme était le plus avancé. Ce fait est sans doute en connexion avec cet autre, que la croissance se ralentit aussi plus tôt dans la même région.

[2]) Ces mesures, de même que les précédentes, ne sont que des moyennes approximatives; on trouve en effet beaucoup de grains mûrs plus petits et plus gros.



et adhérente aux paillettes d'un beau jaune, qui souvent encore ont un reflet rougeâtre. A partir de ce moment, le grain ne croît pas davantage, mais semble être entièrement achevé. Tout apport de substance au grain doit également avoir cessé, et il ne manque plus que le dessèchement nécessaire et les processus qui l'accompagnent pour qu'il soit complètement mûr. Anatomiquement parlant, on peut affirmer qu'il ne survient aucun changement après „la maturité jaune". On ne saurait, à priori, en dire autant au point de vue chimique ou physiologique; mais l'examen de cette importante question n'entre pas dans le cadre de ces études préliminaires.

Le grain d'orge complètement développé et desséché à l'air se compose d'un embryon, d'un endosperme et d'une enveloppe. Cette dernière, comme on sait, comprend le péricarpe, l'enveloppe séminale et (à l'exception des orges nues) les deux paillettes, qui adhèrent assez fortement au fruit.

La Fig. 3, Pl. III, est une coupe transversale de l'enveloppe du côté dorsal du grain après le traitement par la dissolution de chlorure de zinc (60 % env.). Près du sillon, sur le côté ventral du grain l'enveloppe n'est pas aussi comprimée qu'ailleurs.

En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie un peu arrondie, d'un brun foncé, d'où le tégument interne, en général aussi coloré, et l'épiderme du nucelle tirent leur origine. De cette ligne d'attache, qui, vue en coupe longitudinale, se présente comme une longue raie sombre („Pigmentstrang") rayonnent vers l'endosperme quelques files de cellules allongées, vides, en partie affaissées, qui sont à considérer comme des restes du nucelle (Pl. III, Fig. 6 et 6 a). Ces deux figures reproduisent le sillon en entier ou en partie, tel qu'il se montre dans la coupe transversale du grain mûr entièrement développé (comp. Pl. III, Fig. 7 g) et du grain encore vert et un peu moins développé (comp. Pl. III, Fig. 7 e et f). Sur la Fig. 6, on voit dans ce dernier, entre le reste du nucelle et l'endosperme, une grande cavité[1]) qui se forme déjà dans des phases bien antérieures. On voit également que l'enveloppe et le reste du nucelle, près du sillon, ne pénètrent pas profondément dans le grain, comme chez le seigle et le froment, mais demeurent presque en dehors. La ligne étroite qui, dans la coupe transversale du grain mûr, aboutit environ au milieu de l'endosperme, n'est donc, dans le grain d'orge, que la limite entre les deux parties qui viennent se rejoindre du côté ventral infléchi de l'endosperme[2]). Le long de cette limite,

---

[1]) M. Novacki. après avoir mentionné la formation d'une pareille cavité chez le grain de froment, dit que par là se trouve rompu le pont par lequel passent les substances servant à l'alimentation de l'endosperme. Cela n'est pas exact; M. Novacki n'a pas tenu compte du rôle de l'osmose dans le transport des matières nutritives, et a oublié que l'endosperme n'a jamais été en liaison organique avec le reste du nucelle.

[2]) Cette indication est en opposition avec celle de M. Kudelka: „Zur Zeit der Vollreife reicht eine schmale Parthie des Fibrovasalstranges

les couches extérieures des cellules de l'endosperme ont des formes très irrégulières et des parois épaisses, et sont en partie vides.

L'embryon, dans ce qui précède, a été presque complètement laissé de côté. M. Nörner[1]) a décrit (Hord. vulg.) les premières phase de son développement. Mes observations s'accordent avec les siennes. M. Holzner dépeint brièvement son développement ultérieur, la formation de ses organes et donne de bonnes figures schématiques.

Lorsque le fruit est encore tout jeune, le petit embryon croît au sein de l'endosperme mou et en est presque complètement enveloppé. Pendant que l'embryon, en croissant, épuise et refoule peu à peu les cellules les plus voisines, les parois de cellis-ci, en tant qu'elles ne sont pas dissoutes, s'amoncellent les une sur les autres et finissent par former une couche assez épaisse qui sépare de l'embryon les cellules amylifères de l'endosperme. Les cellules non amylifères de l'endosperme entourent au contraire, mais seulement dans une seule couche, la partie supérieure de l'embryon; elles diviennent de plus en plus petites et disparaissent à la fin complètement. La Fig. 2, Pl. III, est trop petite pour qu'on puisse la voir; mais je puis me référer à M. Lintner: Lehrbuch der Bierbrauerei Braunschweig 1885, p. 25 et 31, Fig. 5 et 8, dessins qu'on trouve aussi chez M. Holzner l. c. M. Kudelka (l. c. p. 11) donne la même indication.

La partie clypéiforme de l'embryon contiguë aux cellules comprimées et vides de l'endosperme est le cotylédon (Warming), qui se distingue par son épiderme particulier. Il y a 4—6 radicules, toutes enfermées dans la coléorrhize, qu'elle percent lors de la germination. La gemmule est formée de plusieurs jeunes feuilles qui se recouvrent les unes les autres en forme de cornet. L'embryon ne renferme pas d'amidon, mais est riche en substances grasses et protéiques.

L'endosperme contient comme réserves surtout des hydrates de carbone et des substances grasses et protéiques. L'amidon et la cellulose sont les seuls hydrates de carbone qu'on ne puisse reconnaître au microscope.

Les substances protéiques sont répandues dans tout l'endosperme; dans les cellules amylifères, elles constituent la partie principale du „réseau" où les grains d'amidon sont logés. Ce réseau a sa plus grande épaisseur dans les cellules voisines de la périphérie de l'endosperme et dans sa partie supérieure; il est beaucoup plus mince dans les cellules plus profondément situées.

Les substances grasses ne se trouvent en grande quantité que dans les trois couches extérieures de l'endosperme, qui ont aussi des parois très épaisses dont la cellulose se dissout en majeure partie

---

(il entend sans doute par là le faisceau fibro-vasculaire, la ligne d'attache et le reste du nucelle) bis in die Mitte des Kornes, und es umgeben ihn stark verdickte Kleberzellen". M. Holzner dit que quelques cellules dues à une formation cellulaire libre doivent se produire dans la cavité dont il s'agit. Je n'ai jamais rien vu de pareil.

[1]) Flora 1881, No. 16.

dans le liquide en fermentation, mais la maladie se déclarait dès que l'une des deux autres espéces, n'importe laquelle, était mélangée avec la première dans la proportion indiquée.

La fermentation marchant très lentement dans les ballons Pasteur, j'ai répété l'expérience avec des bocaux cylindriques recouverts de papier à filtrer préalablement passé à travers une flamme. De cette manière, on opérait aussi dans des conditions qui se rapprochaient davantage de celles des brasseries. Des 6 bocaux employés, deux étaient marqués *A*, deux, *B* et deux, *C*, et ils renfermaient chacun 1300 c. c. du même moût stérilisé. On sema dans chacun des bocaux *A* 2,50 c. c. du Sacch. cerevisiæ ci-dessus mentionné, et dans chacun des bocaux *B* et *C*, 2 c. c. de la même levûre, plus 0,50 c. c. de Sacch. ellipsoideus II dans *B* et 0,50 c. c. de Sacch. Pastorianus III dans *C*.

Dans cette expérience, comme en général dans toutes les autres, on a eu soin de maintenir exactement *A*, *B* et *C* dans les mêmes conditions, sauf en ce qui concernait l'addition des différentes levûres sur l'action lesquelles il s'agissait de se prononcer. La fermentation principale, basse dans *A* et *B* et avec de faibles phénomènes de fermentation haute dans *C*, se fit à la température de 14—15^0 C. et dura 9 jours, après quoi la bière fut transvasée dans des bouteilles munies de bouchons en caoutchouc traversés par un tube recourbé qui descendait le long de leur paroi extérieure. Cette disposition avait pour but d'ouvrir à l'acide carbonique formé pendant la fermentation ultérieure une voie pour s'échapper, sans qu'on exposât en même temps le liquide à être infecté par les microorganismes du dehors. La fermentation ultérieure eut lieu à la température de 6—7^0 C., et, au bout de 2 mois, on transvasa la bière dans des bouteilles en verre incolore préalablement stérilisées.

Toute la bière ainsi obtenue était claire et il n'était pas possible, à l'œil nu, d'y observer de la levûre; mais après 24 heures d'exposition à la température ordinaire d'un appartement, la bière de *B* et de *C* présentait déjà des symptômes de la maladie. Celle-ci ne fit qu'augmenter de jour en jour, et le 12e jour la bière était pleine de levûre. La bière de *A*, au contraire, était encore parfaitement saine au bout de 15 jours.

J'ai obtenu les mêmes résultats en remplaçant, dans les expériences, le Sacch. cerevisiæ extrait de la bière malade par une culture pure du Sacch. cerevisiæ (levûre basse) employé dans la brasserie de Carlsberg.

Les expériences ayant ainsi montré que la maladie se déclare lorsque, à l'origine de la première fermentation, la levûre employée pour la mise en levain renferme une certaine proportion d'une des deux espèces ci-dessus mentionnées, la seconde question était de savoir comment ces ferments de maladie se comporteraient si on ne les introduisait dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale, par conséquent lorsqu'on la met dans les caves de garde.

Dans ce but, j'ai exécuté, à l'aide des ballons Pasteur, quelques expériences analogues aux précédentes. Dans une première série, les deux levûres de maladie ont été introduits au commencement et, dans

une seconde série correspondante, à la fin de la fermentation principale. Après la fermentation ultérieure, la bière soutirée des deux séries ne présentait pas trace de la maladie. Au bout de quelques jours, celle-ci se déclara comme auparavant dans la bière *B* et *C* de la première série, après qu'elle eut séjourné quelques jours dans la laboratoire; mais toute la bière de la seconde série n'en fut pas attaquée et resta claire comme la bière *A* de la première série.

Ces expériences nous donnent donc ce renseignement intéressant, que les deux ferments de maladie ne peuvent provoquer le trouble de la levûre lorsqu'ils ne sont introduits dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale.

On pourrait peut-être être tenté d'en conclure qu'il est superflu de se donner tant de peine pour nettoyer et enduire de poix les tonneaux de garde. Je dois donc rappeler que le résultat ci-dessus ne concerne que les deux levûres avec lesquelles il a été expérimenté. Mais, comme mes recherches antérieures l'ont constaté, il peut apparaître dans les tonneaux de garde, outre ces deux formes, divers autres microorganismes qui sont en état de provoquer dans la bière des maladies tout aussi graves que celle qui nous occupe.

Pour soumettre le résultat qui précède à une épreuve faite dans les conditions de la pratique, j'ai répété la même expérience avec de la bière de garde ordinaire et de la bière d'exportation prises dans les caves de fermentation de la brasserie de Carlsberg au moment où, la fermentation principale étant terminée, elles devaient passer dans les caves de garde. De chacune de ces espèces de bière, je fis remplir 3 barils, *A*, *B*, *C*, chacun de $16^1/_2$ litres, après quoi je semai dans *B* 10 c. c. d'une levûre assez épaisse de Sacch. ellipsoideus II, et dans *C* 10 c. c. d'une levûre également assez épaisse de Sacch. Pastorianus III; mais les barils *A* ne furent pas infectés. La levûre du Sacch. ellipsoideus II et celle du Sacch. Pastorianus III avaient été produites dans des cultures au moût, à la même température que les cellules de Sacch. cerevisiæ contenues dans la bière. L'expérience ayant ainsi été mise en train, les 6 barils furent placés dans une des caves de garde de la brasserie, où on les laissa $2^1/_2$ mois, par conséquent un temps relativement très court en ce qui concerne la bière d'exportation. La température de la cave était de 2° C.

On procéda alors au soutirage dans des bouteilles préalablement stérilisées, et put constater que la bière de tous les barils *A*, *B* et *C* était cependant claire et sans le moindre trouble, comme une bonne bière marchande. Après avoir été exposées pendant 12 jours à la température ordinaire d'un appartement, aucune des bouteilles ne présentait de trace de la maladie. En un mot, la bière fortement infectée se conservait tout aussi bien que la bière non infectée. Le résultat était donc le même que dans les expériences en petit faites au laboratoire.

Dans des recherches comme celles-ci, dont le but est d'intervenir directement dans la pratique, il est naturellement à désirer que les expériences soient, autant que possible, disposées dans les conditions qui se trouvent réalisées dans une exploitation industrielle. Cela n'a pas souffert de difficulté quant à la question précédente. Mais il en

est tout autrement de la première question que nous avons examinée, à savoir celle de l'infection pratiquée au commencement de la fermentation principale. Il est évident que, quelque désirable que cela fût, on ne pouvait songer à entreprendre les expériences dans la brasserie elle-même, car, suivant toute vraisemblance, la maladie aurait gagné assez rapidement toutes les caves de fermentation et occasionné ainsi de grandes pertes. Toutefois, pour me rapprocher autant que possible de la pratique des brasseries, je résolus de refaire sur une plus grande échelle mes expériences de laboratoire, de manière que la bière fermentée mise en tonneaux pût prendre place dans la cave de garde de la brasserie. Je me proposais en outre, par ces nouvelles expériences, de me procurer des renseignements sur les quantités de ferments de maladie qui doivent se trouver dans la levûre de la mise en levain pour que la maladie puisse se déclarer, et enfin sur l'influence que pouvaient exercer une atténuation plus ou moins forte de la fermentation principale et un séjour plus ou moins long dans les caves de garde.

Voici un exemple des expériences que j'ai exécutées en ayant en vue ces différentes questions.

Dans une pièce du laboratoire de Carlsberg se trouvent deux cuves à fermentation Pasteur, *A* et *B* (une copie, sous quelques rapports améliorée, de la cuve décrite dans les „Études sur la bière", p. 328) de la même grandeur et du reste semblables. La température, dans ce local, était en janvier de 7—10° C. Après avoir versé dans chacune des cuves 165 litres de moût aéré (13,5 % Ball.), le même qui est employé dans la brasserie pour la bière de garde ordinaire, on introduisit dans la cuve *A* 660 grammes d'une levûre épaisse de Sacch. cerevisiæ (levûre basse de la brasserie), et dans la cuve *B*, 644 gr. de la même levûre plus 16 gr. d'une levûre épaisse de Sacch. ellipsoideus II. Cette dernière avait été produite à la même température que le Sacch. cerevisiæ employé; les cellules des deux epèces étaient jeunes et vigoureuses. Les quantités relatives de la levûre et du moût étaient celles qu'on emploie dans la brasserie. Le moût avait une température de 7° C. au moment de la mise en levain. La mousse blanchâtre qui indique le commencement de la fermentation se montra dans les deux cuves au bout de c. 24 heures, et dans le cours de la fermentation principale, la température s'y éleva à 10° C.

Au bout de 8 jours, la quantité d'extrait était dans *A* de 7,6 et, dans *B*, de 7,5 % Ball. Les deux bières avaient le même aspect et le même goût. De la bière de chaque cuve on remplit alors un baril de 66 litres qui fut ensuite descendu dans la cave de garde, dont la température était de 2° C.

On laissa la fermentation se poursuivre dans la bière qui restait dans les deux cuves, et après qu'elle eut duré en tout 10 jours, la quantité d'extrait était de 6,7 % Ball. tant dans *A* que dans *B*. La bière avait le même aspect et le même goût que l'avant-veille; elle fut soutirée dans 4 barils plus petits, dont 2 de chaque cuve, et descendue comme les premières portions dans la cave de garde.

La bière des deux gros barils, dont la quantité d'extrait, au commencement de l'enmagasinage, était de 7,5 % Ball. environ, en

renfermait, au bout de $2^1/_3$ mois, 6 % tant dans *A* que dans *B*. On la soutira dans des bouteilles de verre incolore préalablement stérilisées, qui furent ensuite exposées dans une armoire à la température ordinaire d'un appartement. Aussitôt après le soutirage, les deux bières ne présentaient aucune trace de trouble, mais déjà au bout de 24 heures, un examen attentif pouvait en faire découvrir un commencement dans *B*, et après 5 jours la maladie y était bien distincte, tandis que la bière de *A* restait claire sans trouble de la levûre.

Les 4 petits barils, dont la quantité d'extrait, à leur entrée dans la cave de garde, était de 6,7 %, en renfermaient 3 mois après 5,9 %. La bière de *A* et de *B* paraissait être identique; elle était claire et sans mélange apparent de levûre. Comme dans le cas précédent, on soutira la bière de deux de ces barils dans des bouteilles qui furent ensuite placées dans l'armoire ci-dessus mentionnée. La maladie ne se déclara pas. Au bout de 12 jours, la bière tant de *B* que de *A* était encore claire et sans trouble de la levûre.

Les deux derniers barils restèrent de $^1/_2$ mois de plus dans la cave de garde, par conséquent en tout $3^1/_2$ mois. L'analyse avec le saccharomètre donna la même quantité d'extrait que dans les deux barils précédents. Le résultat fut aussi le même: après 16 jours, on ne distinguait encore aucune trace de la maladie. Comme on pouvait s'y attendre, la bière était plus claire que dans les cas précédents à cause de son plus long séjour dans la cave de garde.

Cette série d'expériences nous apprend que la maladie peut encore se déclarer lorsque le Sacch. ellipsoideus II constitue $^1/_{41}$, de la levûre de la mise en levain, mais seulement si la bière est conduite dans la cave de garde avec une quantité d'extrait d'au moins 7,5 % Ball., et si l'enmagasinage, dans ces conditions, prend déjà fin au bout de $2^1/_3$ mois. Par contre, si la fermentation se poursuit dans la cave de fermentation de manière que la quantité d'extrait se réduise à 6,7 %, et si l'enmagasinage dure au moins 3 mois (par conséquent le temps normal), la maladie ne se déclarera pas.

On doit donc conseiller aux brasseries dans lesquelles cette maladie s'est glissée une atténuation suffisamment forte dans la fermentation principale, et un enmagasinage qui ne soit pas trop court (au moins 3 mois pour la bière de garde ordinaire). Mais si la levûre employée pour la mise en levain renferme une quantité considérable du ferment de maladie, cela ne sera pas même suffisant.

J'ai répété l'expérience en introduisant dans la cuve *B*, au lieu du Sacch. ellipsoideus II, la même proportion de Sacch. Pastorianus III. Le résultat principal a été le même; il semble cependant que, dans cette expérience comme dans quelques autres, le premier de ces ferments est le plus redoutable des deux.

Lorsque de la bière basse normale, fabriquée avec une culture pure de Sacch. cerevisiæ, reste exposée pendant longtemps en bouteilles à la température ordinaire d'un appartement, elle forme en général un dépôt de levûre assez abondant; mais, si on la secoue, elle ne devient pas cependant trouble et opaque. Ce dépôt se divise

en effet en petits grumeaux et fragments, sans que les cellules se séparent sensiblement les unes des autres pour flotter dans le liquide, et toutes ces petites parties retombent rapidement au fond. Tout autrement se comporte le dépôt qui, en très peu de temps, prend naissance dans la bière malade, car il est sans consistance et, à la moindre secousse, remonte dans le liquide sous forme d'un nuage de cellules isolées. Si la bière est attaquée à un haut degré et qu'on la secoue fortement, elle devient aussi comme toute boueuse. En d'autres termes, la bière saine peut bien former un dépôt de levûre tout aussi grand que la bière malade, sans cesser cependant pour cela d'être potable.

Si une brasserie qui a souffert de ce mal a repris son exploitation à l'aide d'un nettoyage à fond des caves de fermentation, et après s'être procuré une levûre de bonne qualité, elle doit veiller avec soin à ce que la maladie ne soit pas ramenée par la lie des tonneaux de garde.

Dans plusieurs brasseries on ne prend aucune précaution à cet égard. La lie se répand dans les cours et est apportée directement dans les caves de fermentation, surtout par les chaussures des ouvriers, ou bien elle se dessèche au dehors et le vent en emporte les poussières sur les bacs où refroidit le moût. De là, les ferments de maladie se glissent dans les cuves de fermentation, où ils commencent à se développer. Au début, cela marche bien très lentement de sorte qu'on ne remarque aucun danger, mais peu à peu les cellules s'accumulent, et à la fin la levûre servant à la mise en levain renferme assez de levûre spontanée pour que la maladie puisse se déclarer. A partir de ce moment, elle se développe avec une rapidité extraordinaire, et toute la bière de la brasserie est bientôt de nouveau attaquée. C'est à l'occasion de cas pareils que, dans le monde des brasseries, on peut souvent entendre parler de cette maladie momme de quelque chose de mystique. „Si elle vient, dit-on, il n'y a qu'à s'incliner; essayer de la combattre ne sert de rien, c'est un malheur contre lequel personne ne peut se défendre.“ On change alors sa levûre, et si la nouvelle levûre de la brasserie *A* n'aide pas, on s'adresse à *B*, etc. Mais qu'il faille chercher et combattre la cause du mal dans l'exploitation elle-même, c'est à quoi l'on pense rarement.

Des espèces autres que le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II peuvent sans doute aussi provoquer dans la bière le trouble de la levûre. Dans le 1er vol. 4e liv. p. 216 de se Compte-rendu, j'ai déjà émis l'opinion que l'espèce du groupe Pastorianus dont il y est parlé, était probablement du nombre. Il peut être bon de rappeler ici que le phénomène du trouble de la levûre se manifeste sous plusieurs formes. Sous ce nom est comprise toute une série de maladies différentes.

Le Sacch. Pastorianus mentionné en dernier lieu nous a également donné un exemple caractéristique du fait, que certaines espèces du genre Saccharomyces peuvent produire une bière d'un goût désagréable pour les connaisseurs.

Il s'en faut que le trouble de la bière soit toujours dû à des organismes. Assez général est, par ex., celui qui se produit lorsque

de la bière claire, après avoir été exposée à une basse température, devient opaline, intransparente, et ne recouvre sa clarté qu'après avoir été réchauffée. Ce phénomène, on l'explique ordinairement par la circonstance que, sous l'action du froid, il se sépare des substances protéiques qui se redissolvent lorsque la bière reprend sa température primitive, mais l'aspect opalin peut aussi provenir d'autres causes et se manifester sous d'autres formes. Il a été constaté, dans certains cas, qu'en ajoutant une assez petite quantité de Sacch. Pastorianus III à la levûre employée pour la mise en levain, on pouvait empêcher la bière de devenir opaline. Ainsi, tandis que de la bière fermentée à l'aide d'une culture pure de Sacch. cerevisiæ devint fortement opaline et resta telle, même après une exposition de plusieurs jours à la température ordinaire d'un appartement, la bière correspondante, qui était préparée de la même manière avec la seule différence que la levûre de la mise en levain avait été additionnée d'une petite portion de Sacch. Pastorianus III, était parfaitement claire aussitôt après le soutirage dans la cave de garde et continua à l'être. On doit donc supposer que, pendant la fermentation ultérieure, cette dernière levûre a fait disparaître les substances qui rendaient la première bière opaline. D'autres expériences ont au contraire montré que deux levûres qui, chacune prise à part, donnaient une bière claire, produisaient par leur mélange une bière opaline. Ces questions et d'autres analogues seront successivement soumises à un examen approfondi dans le laboratoire de Carlsberg.

Les espèces du genre Saccharomyces soulèvent en somme des problèmes d'une grande importance pour l'industrie des fermentations, et offrent sous ce rapport, au moins pour le moment, plus d'intérêt que les bactéries; mais tout ce domaine est resté jusqu'à présent comme un pays presque entièrement inconnu.

Développemet et constitution de l'endosperme de l'orge.

Études anatomiques préliminaires sur la question des grains tendres.

Par

W. Johannsen.

Ces recherches n'ont porté que sur les espèces d'orge cultivées qui, dans tous les points essentiels, présentent entre elles une grande conformité. Comme matériaux, j'ai sur tout employé le Hordeum distichon; les figures sont dessinées d'après cette espèce à moins qu'une autre ne soit indiquée.[1])

Pour les préparations microscopiques de jeunes fruits, je me suis presque toujours servi de procédé de M. Strasburger: durcissement dans l'alcool absolu et traitement subséquent par la glycérine et l'alcool. Les réactifs employés, sauf mention contraire, ont été préparés d'après les indications de M. V. A. Poulsen, Microchimie végétale, Paris 1882.

L'ovaire de l'orge, comme celui des autres graminées, ne renferme qu'un ovule, qui est adhérent au côté de l'ovaire (ventral ou du sillon), qui regarde la paillette supérieure. Il n'y a donc pas de funicule proprement dit; l'ovule sessile est fixé à la paroi de l'ovaire par une ligne d'attache assez longue. Toute la partie de l'ovaire située au-dessus de la cavité ovarienne est dépourvue de chlorophylle, et garnie de nombreux poils raides, pointus, à une ou plusieurs cellules et souvent ramifiés qui la font paraître d'une blancheur éclatante, tandis que la partie de l'ovaire qui entoure la cavité ovarienne est verdâtre, par suite de la présence de quelques couches de cellules du parenchyme interne qui renferment de la chlorophylle. Ces cellules sont surtout accumulées des deux côtés de la suture ventrale et tout près de celle-ci, et c'est pourquoi cette suture paraît à l'œil nu vert foncé dans une coupe transversale, bien qu'elle soit elle-même incolore. La partie supérieure de l'ovaire est divisée par une dépression en deux parties, dont celle qui regarde la paillette

[1]) Relativement aus ouvrages dont je me suis servi, je dois me référer au texte danois; je n'indiquerai ici que les principaux.

supérieure est beaucoup plus haute que l'antérieure (comp. Pl. I, Fig. 1), et se divise à son tour en deux lobes, l'un à droite et l'autre à gauche, qui forment chacun un vigoureux stigmate couvert de poils pennés (comp. Fig. 2). Entre les deux parties ci-dessus mentionnées, une fente ou un canal étroit descend verticalement dans l'ovaire (Fig. 1) presque jusqu'à la cavité ovarienne.

L'ovaire est traversé de bas en haut par quartre faisceaux, dont l'un dans la partie dorsale, vis-à-vis de la suture ventrale et un peu au-dessous d'une faible sinnosité de l'ovaire (Pl. I, Fig. 3 a); les deux suivants sont situés sur les côtés de l'ovaire et vont se perdre dans les stigmates (Plan I, Fig. 2 a, Fig. 3 b, c), tandis que le premier ne monte pas si haut. Le quatrième, qui est le plus fort et présente des vaisseaux bien distincts, suit la suture ventrale en dehors de la ligne d'attache de l'ovule et parallèlement à cette ligne (Fig. 3 d). En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie arrondie et formée de petites cellules (Fig. 3 e), d'où les deus téguments de l'ovule, l'épiderme du nucelle et l'épiderme de la cavité ovarienne tirent leur origine.

L'ovule est un peu recourbé en S. En effet si, sur une coupe longitudinale (Fig. 1), on part de la ligne d'attache, il s'élève d'abord, s'infléchit ensuite vers le bas et enfin vers le côté opposé de la chalaze, le micropyle étant tourné en dehors[1]). Du sommet de l'ovule les deux téguments forment une pointe qui pénètre bien avant dans le tissu conducteur venant des stigmates (Fig. 1 et 2). Chaque tégument se compose de deux couches de cellules; cependant ils en renferment un plus grand nombre dans la pointe ci-dessus mentionnée et près du micropyle, où le tégument externe présente une grande ouverture, tandis que le tégument interne n'a qu'une petite fente (Fig. 1 m). Dans cette partie supérieure dont il vient d'être question, on ne voyait pas distinctement comment se comportaient les couches du tégument externe; la couche extérieure du tégument interne ne semblait pas s'être devisée (comp. Pl. I, Fig. 11). On trouve des caractères correspondants chez le seigle; ils sont indistincts chez le froment.

Dans l'ovaire développé, le tégument externe, déjà avant la pollinisation, est très mou et ses cellules claires, à parois minces, sont en partie vides. Il semble que ce tégument sarve à conduire le tube pollinique après qu'il a atteint la cavité ovarienne[2]). Les tissus conducteurs proprement dits descendent, en se rapprochant l'un de l'autre, des stigmates dans l'intérieur des parties qui portent ces derniers (comp. Fig. 2). Les deux tissus conducteurs se rencontrent encore dans la région postérieure de la partie supérieure de l'ovaire (comp. Fig. 1), et s'avancent ensuite ensemble vers la cavité ovarienne en

---

[1]) Cfr. Hofmeister: Neue Beiträge z. Kenntniss d. Embryoentwickelung der Phanerogamen. II Monocotyledonen (Abhdl. d. k. sachs. Gesellschaft d. Wissenschaften Bd. VII p. 651) et Payer: Organogénie de la fleur. Paris 1857 p. 703.

[2]) Holzner, Botan. Centralblatt Bd. 12, 1882, p. 107.

passant successivement dans la région antérieure de l'ovaire. La petite fente mentionnée plus haut n'est ainsi entourée à sa base que de tissu conducteur et devient ainsi moins distincte. Les cellules de ce tissu sont étroites, molles, tres allongées, à parois minces et sans trace d'amidon; à un examen superficiel, elles cachent facilement la pointe des téguments.

Avant la fécondation, on trouve dans le sac embryonnaire une vésicule embryonnaire et deux synergides assez petits et à contours un peu vagues (Fig. 12 e & s); le noyau central est distinct de même que les antipodes (Fig. 12, a), qui se développent plus vite que les cellules sexuelles; il y en a au moins six. Après la fécondation, peut-être déjà avant, les antipodes commencent à se diviser rapidement et le nombre des noyaux augmente beaucoup; j'en ai compté 31 et peut-être y en a-t-il davantage. En même temps, le sac embryonnaire s'élargit considérablement; il croît d'abord plus d'un côté que de l'autre, comme c'est surtout le côté tourné vers la partie dorsale de l'ovaire qui s'allonge fortement en se courbant (Pl. I, Fig. 9, 10). Par suite, les antipodes se trouvent transportés sur le côté du sac embryonnaire vers le sillon.

L'endosperme commence alors à se former. Je n'ai jamais réussi à observer la division du noyau central, mais n'ai aucune raison de douter que les indications générales de M. Strasburger se confirment également ici. Le noyau central doit, par des divisions rapides et successives, donner naissance à un grand nombre de noyaux filles. Ceux-ci sont logés dans le protoplasme et tapissent la paroi interne du sac embryonnaire; les antipodes et les cellules sexuelles restent cependant entre cette paroi et le jeune endosperme. L'ovaire a alors une longueur de 3,5 millimètres environ. La Fig. 3, Pl. I, représente une coupe transversale d'un pareil grain passant par le milieu de la cavité ovarienne, et la Fig. 8, une partie de cette coupe avec un plus fort grossissement. La paroi de l'ovaire[1]) se compose ici des couches de cellules suivantes: l'épiderme, un parenchyme incolore qui renferme de petits grains d'amidon, deux (çà et là, surtout dans le voisinage de la suture ventrale, 3 ou davantage) chouches de cellules chlorophyliennes allongées en travers et enfin l'épiderme de la cavité ovarienne. Puis vient le tégument externe qui maintenant est dépéri et en partie disparu. Par contre, les cellules du tégement interne, de même que celles de l'épiderme du nucelle, sont encore riches en protoplasme et renferment des noyaux relativement gros. En dedans de cet épiderme, on voit le reste à demi déplacé du nucelle et au fond les jeunes noyaux de l'endosperme. Toutes les parties de l'ovule, y compris les téguments et son point d'attache, sont entièrement dépourvues de grains d'amidon.

Une coupe longitudinale correspondante donne une image un peu différente. Les cellules incolores du parenchyme apparaissent

---

[1]) Comp. aussi: Kudelka, „Entwickelung u. Bau d. Frucht u. Samenschale unserer Cerealien", Berlin, 1875, et Grønlund „Om Melbyg og Glasbyg", Kjøbenhavn 1879, p. 29—32.

avec des parois assez droites; elles sont disposées en rangées longitudinales et sont un peu allongées dans le sens de la longueur de l'ovaire. Les cellules de chlorophylle paraissent par contre presque rondes. Il n'y a pas grande différence entre les coupes longitudinale et transversale des autres couches de cellules. Les noyaux de l'endosperme présentent la même image dans les deux sens.

Les cellules du parenchyme dans la paroi de l'ovaire sont, dans la phase représentée Fig. 3, beaucoup plus grandes qu'avant la fécondation et ont entre elles un peu moins de cohérence. Les cellules de chlorophylle sont également plus grandes qu'auparavant. Le tégument externe est bien plus dépéri et le faisceau vasculaire dans la suture ventrale, plus fort qu'avant la fécondation.

Si, à l'aide d'une aiguille, on étend une partie du revêtement du sac embryonnaire dans une goutte de glycérine (Plan I, Fig. 16), on voit qui la grandeur des noyaux de l'endosperme et leur distence mutuelle diminuent d'autant plus qu'ils sont plus voisins des antipodes (Fig. 16 a). C'est donc dans le voisinage de ces derniers que la division des noyaux de l'endosperme est le plus avancée, et c'est aussi là, par conséquent hors de la suture ventrale, que les parois des cellules se forment le plus tôt.

Pendant que le sac embryonnaire déplace de plus en plus le nucelle, le jeune endosperme poursuit son développement. L'ovaire croît en même temps, surtout en longueur (hauteur)[1]), les cellules, sauf celles des couches à chlorophylle, s'allongeant beaucoup dans cette direction.

A l'aide d'une aiguille, on peut facilement étendre dans la glycérine de grandes lamelles du jeune endosperme, et observer les différentes phases de la formation des parois des cellules. Mes observations ont toujours concordé avec les indications générales de M. Strasburger. Après la formation de leurs parois, les jeunes cellules commencent à s'allonger dans le sens radial vers la cavité du sac embryonnaire.

La Fig. 13, Pl. I, est une coupe transversale de l'endosperme d'un grain long de 4,5 millim. environ. On voit tout de suite que c'est sur le côté ventral (f), où il est en contact avec les antipodes, maintenant à moitié résorbés et non représentés sur la figure, que l'endosperme est le plus développé. La Fig. 14 montre une petite partie de la même coupe avec un plus fort grossissement. Les parois sont très minces et un peu crêpées (l'action de l'alcool). Les formes allongées des noyaux indiquent de prochaines divisions; la Fig. 17 reproduit différentes phases de la division. La jonction dite „Verbindungsfaden" ne forme pas ici la figure ordinaire ressemblant à un tonneau.

Pendant que l'ovaire croît toujours en longueur et peu seulement en volume, le sac embryonnaire est complètement rempli par l'endosperme. La rencontre en son milieu des cellules du côté dorsal et

---

[1]) Holzner „Die Gerste" (Der bayrische Bierbrauer, 1876, p. 200) indique plusieurs mesures qui s'accordent avec celle-là.

du côté ventral détermine la formation d'une ligne de soudure bien distincte (comp. Pl. II, Fig. 1). La partie voisine de la suture ventrale (en f) est constamment la plus développé; déjà en ce point — la longueur du grain est de 5 à 5,5 millimètres environ — la couche de cellules extérieure de l'endosperme a commencé à se différencier, elle est remplie de matière protéique et on n'y aperçoit que très indistinctement des cordons de protoplasme. Il n'y a encore pas trace d'amidon dans l'endosperme, et ce n'est qu'après plusieurs divisions de cellules qui semblent s'opérer simultanément dans l'endosperme tout entier que cette substance fait son apparition.

Le grain est alors long de 6 à 7 millim. et a commencé à croître un peu plus en volume. La Fig. 3, Pl. II, représente une coupe transversale de l'endosperme dans cette phase. La ligne de soudure est encore distincte, mais disparaît plus tard. Les grains d'amidon apparaissent d'abord dans les parties supérieures de l'endosperme, toutefois pas au sommet, à la pointe du grain. La coupe, qui passe un peu au-dessus du centre du grain, montre où prennent naissance les premiers grains d'amidon, à savoir autour de la ligne de soudure, au milieu des deux demi-longueurs du grain et dans deux parties voisines du côté ventral. On ne rencontre jamais d'amidon dans la couche extérieure de l'endosperme, mais, outre son riche contenu en protoplasme, on y trouve déjà dans cette phase un peu de matiére grasse.

La Fig. 5, Pl. II, reproduit avec un plus fort grossissement une partie de la Fig. 3. De la couche extérieure (o), dont le contenu est très abondant, dérivent les cellules à parois épaisses et sans amidon, qui sont disposées en trois rangées. Dans les cellules voisines de la ligne de soudure, qui limite la figure vers le bas, on aperçoit de petits grains dans le protoplasme qui entoure le noyau et dans les parties contiguës. L'iode[1]) ne les colore que faiblement en un bleu peu distinct. Mais si l'on emploie du chlorure de zinc iodé, les petits grains se gonflent et se colorent fortement en brun noir. La Fig. 6, Pl. II, représente quelques cellules traitées par ce réactif. Immédiatement avant que la présence de l'amidon puisse être constatée à l'aide du chlorure de zinc iodé ou de la potasse et de l'iode, le protoplasme qui entoure le noyau de la cellule est faiblement grumeleux; on a peut-être dans ces gruaux les „Stärkebildner" de Schimper sous une forme très indistincte.

Après que l'amidon a commencé à se former dans une cellule de l'endosperme, il ne semble pas que celle-ci se divise davantage; du moins je n'ai trouvé de l'amidon dans aucune cellule de l'endosperme en train de se diviser. Par contre, les divisions se pour-

[1]) La dissolution d'iode employée a été préparée comme il suit: à 1 partis d'iode dissoute dans 20 parties d'alcool, on ajoute 80 parties d'eau et, après $^1/_2$ heure de repos, on filtre pour séparer l'iode qui s'est précipité. Une pareille dissolution faible d'iode est souvent à préférer à une plus forte, la coloration étant beaucoup plus égale.



suivent dans les cellules qui ne renferment pas de l'amidon, surtout dans le rayon périphérique de l'endosperme.

La Fig. 7 b, Pl. III, est une coupe transversale d'un grain long de 8,5 millim. environ. En la comparant avec Fig. 7 a, on constate que ce grain a aussi beaucoup grossi. La Fig. 8, Pl. II, montre, avec un fort grossissement, une partie d'une coupe transversale d'un grain ayant 8,5 millim. de long. On voit immédiatement que la couche de cellules extérieure de l'endosperme (Fig. 5, o) s'est, par des cloisons tant tangentielles que radiales, divisée en plusieurs cellules remplies d'un contenu grumeleux. La Fig. 10 fait voir les mêmes cellules telles qu'elles se présentent dans une coupe tangentielle. Dans ce sens, elles sont disposées d'une manière très irrégulière, tandis qu'en coupe transversale et surtout en coupe longitudinale, leur arràngement est plus régulier. Elles renferment maintenant une grande quantité de substances grasses et protéiques; cependant on n'y distingue pas encore clairement des grains d'aleurone.

En dedans de ces cellules viennent les cellules amylifères. C'est vers l'intérieur de l'endosperme que se trouvent les grains d'amidon les plus âgés et les plus gros, et vers la périphérie, les plus jeunes et les plus petits. Ils sont oblongs et de forme un peu irrégulière, tandis que dans l'endosperme complètement développé ils ont une forme lenticulaire assez régulière. Les très petits grains que, dans l'endosperme tout développé, on rencontre entre les gros grains d'amidon, n'existent pas encore. Les noyaux des cellules sont maintenant trés distincts. Les cordons du protoplasme ne se voient pas distinctement sans une préparation speciale (coloration); mais si, dans une coupe, on enlève l'amidon à l'aide de l'acide azotique étendu (env. 10 %), on reconnaît facilement que tous les grains d'amidon sont logés dans le protoplasme. Les parois inclinées en dedans des cellules de l'endosperme ne suivent pas sur la figure une direction exactement radiale à partier de la périphérie. Elle reproduit en effet une partie prise sur le côté de l'ovaire et où ces parois, par suite de la croissance non homogène de l'endosperme et du renflement qui en résulte, ont été un peu rejetées hors de leur direction primitive. Mais les Fig. 5, Pl. II, et 1, Plan III, sont dessinées d'après des parties prises sur le dos du grain, et la direction primitive y est conservée.

La Fig. 9, Pl. II, est une coupe transversale de la paroi de l'ovaire, correspondant à l'endosperme de la Fig. 8. Elle représente une partie peu éloignée de la suture ventrale. Les cellules de l'épiderme ont des parois plus épaisses qu'auparavant (comp. Pl. I, Fig. 8) et se sont allongées dans le sens tangentiel. Le parenchyme incolore est devenu beaucoup plus lâche, et ses cellules se sont aussi accrues dans le même sens pendant le grossissement du grain. Une partie des cellules intérieures du parenchyme sont maintenant complètement affaissées, tandis que les cellules vertes sont encore bien remplies; la figure en montre trois couches. L'épiderme intérieur et le tégument ont disparu ou presque disparu. Le tégument interne est encore distinct, de même que les cellules de l'épiderme du nucelle dont le nombre a beaucoup augmenté. Le nucelle lui-même est entièrement refoulé par l'endosperme, excepté tout près de la ligne d'attache.

Sur le côté dorsal du grain, toute la paroi de l'ovaire est bien plus comprimée que dans la figure.

Sur les coupes longitudinales, toutes les cellules de la paroi de l'ovaire, à l'exception des vertes, sont extrêmement allongées dans le sens du grand axe du fruit. Les cellules vertes se sont peut-être divisées. Dans cette phase, tout le fruit est plus fortement coloré en vert qu'auparavant, car les cellules à chlorophylle rayonnent maintenant plus facilement à travers le parenchyme incolore, mince et transparent. Les paillettes commencent à s'attacher au fruit lui-même.

La Fig. 7, Pl. II, est une coupe longitudinale du grain entier dans la même phase. L'embryon est loin d'être développé et doit encore refouler une grande partie de l'endosperme.

Après la phase qui vient d'être décrite, dans laquelle le grain entier renferme environ 70 % d'eau et l'endosperme se présente sous forme d'un mucilage laiteux et épais, le grain s'allonge bien encore un peu, mais croît surtout en volume, notamment au milieu. Par suite d'une croissance moins rapide dans la partie voisine de la suture ventrale[1]), l'endosperme s'infléchit de manière que sa coupe transversale se rapproche de la forme d'un fer à cheval qui, plus tard, divient de plus en plus réniforme. En même temps, les cellules se remplissent toujours davantage de réserves.

Lorsque le grain a une longueur de 9 millim. environ, qu'il renferme env. 52 % d'eau et se présente en coupe transversale comme la Fig. 7 e, Pl. III, la chlorophylle a commencé à s'altérer dans les cellules de la paroi de l'ovaire. Les cellules ont un contenu plus jaunâtre, excepté des deux côtés de la suture ventrale, où la couleur verte se maintient le plus longtemps. Dans la phase représentée Fig. 7 f, où le grain renferme 40 % environ de son poids d'eau, on voit encore à droite et à gauche de la suture des taches vert olive.

Lorsque le grain est complètement développé au point de vue anatomique, on n'y trouve plus de chlorophylle; la proportion d'eau est de 30 % environ, et l'endosperme a une consistance molle, céroïde et un peu tenace. La Fig. 7 g représente une coupe transversale d'un pareil grain, et l'on voit que le sillon apparaît ici comme une ligne fine qui va jusqu'au milieu de l'endosperme. Le grain a maintenant une longueur de 9 à 9,5 millim.[2]). Cette phase est en général désignée sous le nom de „maturité jaune" („Gelbreife"). Toutes les feuilles sont flétries, les tiges sont jaunes ou fauves, avec des nœuds d'un vert olive sale, et le plus souvent complètement desséchées dans la partie supérieure voisine de l'épi. Les arêtes sont également jaunes ou fauves. La paroi de l'ovaire est très comprimée

---

[1]) On a relevé plus haut (p. 63) que c'est dans le voisinage de la suture ventrale que le développement de l'endosperme était le plus avancé. Ce fait est sans doute en connexion avec cet autre, que la croissance se ralentit aussi plus tôt dans la même région.

[2]) Ces mesures, de même que les précédentes, ne sont que des moyennes approximatives; on trouve en effet beaucoup de grains mûrs plus petits et plus gros.



et adhérente aux paillettes d'un beau jaune, qui souvent encore ont un reflet rougeâtre. A partir de ce moment, le grain ne croît pas davantage, mais semble être entièrement achevé. Tout apport de substance au grain doit également avoir cessé, et il ne manque plus que le dessèchement nécessaire et les processus qui l'accompagnent pour qu'il soit complètement mûr. Anatomiquement parlant, on peut affirmer qu'il ne survient aucun changement après „la maturité jaune". On ne saurait, à priori, en dire autant au point de vue chimique ou physiologique; mais l'examen de cette importante question n'entre pas dans le cadre de ces études préliminaires.

Le grain d'orge complètement développé et desséché à l'air se compose d'un embryon, d'un endosperme et d'une enveloppe. Cette dernière, comme on sait, comprend le péricarpe, l'enveloppe séminale et (à l'exception des orges nues) les deux paillettes, qui adhèrent assez fortement au fruit.

La Fig. 3, Pl. III, est une coupe transversale de l'enveloppe du côté dorsal du grain après le traitement par la dissolution de chlorure de zinc (60 % env.). Près du sillon, sur le côté ventral du grain l'enveloppe n'est pas aussi comprimée qu'ailleurs.

En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie un peu arrondie, d'un brun foncé, d'où le tégument interne, en général aussi coloré, et l'épiderme du nucelle tirent leur origine. De cette ligne d'attache, qui, vue en coupe longitudinale, se présente comme une longue raie sombre („Pigmentstrang") rayonnent vers l'endosperme quelques files de cellules allongées, vides, en partie affaissées, qui sont à considérer comme des restes du nucelle (Pl. III, Fig. 6 et 6 a). Ces deux figures reproduisent le sillon en entier ou en partie, tel qu'il se montre dans la coupe transversale du grain mûr entièrement développé (comp. Pl. III, Fig. 7 g) et du grain encore vert et un peu moins développé (comp. Pl. III, Fig. 7 e et f). Sur la Fig. 6, on voit dans ce dernier, entre le reste du nucelle et l'endosperme, une grande cavité[1]) qui se forme déjà dans des phases bien antérieures. On voit également que l'enveloppe et le reste du nucelle, près du sillon, ne pénètrent pas profondément dans le grain, comme chez le seigle et le froment, mais demeurent presque en dehors. La ligne étroite qui, dans la coupe transversale du grain mûr, aboutit environ au milieu de l'endosperme, n'est donc, dans le grain d'orge, que la limite entre les deux parties qui viennent se rejoindre du côté ventral infléchi de l'endosperme[2]). Le long de cette limite,

[1]) M. Novacki. après avoir mentionné la formation d'une pareille cavité chez le grain de froment, dit que par là se trouve rompu le pont par lequel passent les substances servant à l'alimentation de l'endosperme. Cela n'est pas exact; M. Novacki n'a pas tenu compte du rôle de l'osmose dans le transport des matières nutritives, et a oublié que l'endosperme n'a jamais été en liaison organique avec le reste du nucelle.

[2]) Cette indication est en opposition avec celle de M. Kudelka: „Zur Zeit der Vollreife reicht eine schmale Parthie des Fibrovasalstranges

les couches extérieures des cellules de l'endosperme ont des formes très irrégulières et des parois épaisses, et sont en partie vides.

L'embryon, dans ce qui précède, a été presque complètement laissé de côté. M. Nörner[1]) a décrit (Hord. vulg.) les premières phase de son développement. Mes observations s'accordent avec les siennes. M. Holzner dépeint brièvement son développement ultérieur, la formation de ses organes et donne de bonnes figures schématiques.

Lorsque le fruit est encore tout jeune, le petit embryon croit au sein de l'endosperme mou et en est presque complètement enveloppé. Pendant que l'embryon, en croissant, épuise et refoule peu à peu les cellules les plus voisines, les parois de cellis-ci, en tant qu'elles ne sont pas dissoutes, s'amoncellent les une sur les autres et finissent par former une couche assez épaisse qui sépare de l'embryon les cellules amylifères de l'endosperme. Les cellules non amylifères de l'endosperme entourent au contraire, mais seulement dans une seule couche, la partie supérieure de l'embryon; elles diviennent de plus en plus petites et disparaissent à la fin complètement. La Fig. 2, Pl. III, est trop petite pour qu'on puisse la voir; mais je puis me référer à M. Lintner: Lehrbuch der Bierbrauerei Braunschweig 1885, p. 25 et 31, Fig. 5 et 8, dessins qu'on trouve aussi chez M. Holzner l. c. M. Kudelka (l. c. p. 11) donne la même indication.

La partie clypéiforme de l'embryon contiguë aux cellules comprimées et vides de l'endosperme est le cotylédon (Warming), qui se distingue par son épiderme particulier. Il y a 4—6 radicules, toutes enfermées dans la coléorrhize, qu'elle percent lors de la germination. La gemmule est formée de plusieurs jeunes feuilles qui se recouvrent les unes les autres en forme de cornet. L'embryon ne renferme pas d'amidon, mais est riche en substances grasses et protéiques.

L'endosperme contient comme réserves surtout des hydrates de carbone et des substances grasses et protéiques. L'amidon et la cellulose sont les seuls hydrates de carbone qu'on ne puisse reconnaître au microscope.

Les substances protéiques sont répandues dans tout l'endosperme; dans les cellules amylifères, elles constituent la partie principale du „réseau" où les grains d'amidon sont logés. Ce réseau a sa plus grande épaisseur dans les cellules voisines de la périphérie de l'endosperme et dans sa partie supérieure; il est beaucoup plus mince dans les cellules plus profondément situées.

Les substances grasses ne se trouvent en grande quantité que dans les trois couches extérieures de l'endosperme, qui ont aussi des parois très épaisses dont la cellulose se dissout en majeure partie

---

(il entend sans doute par là le faisceau fibro-vasculaire, la ligne d'attache et le reste du nucelle) bis in die Mitte des Kornes, und es umgeben ihn stark verdickte Kleberzellen". M. Holzner dit que quelques cellules dues à une formation cellulaire libre doivent se produire dans la cavité dont il s'agit. Je n'ai jamais rien vu de pareil.

[1]) Flora 1881, No. 16.



pendant la germination et sert sans doute ainsi comme réserve. Les cellules contenant des substances grasses ne sont pas amylifères, mais renferment des grains d'aleurone.

La Fig. 1, Pl. III, est une coupe transversale de la partie dorsale du grain et représente un fragment de l'endosperme. La préparation, qui provient d'un grain dur et sec, a étè traitée par une dissolution bien fluide de baume de Canada dans le chloroforme, et n'est par suite que peu gonflée; son aspect répond à peu près à celui de l'endosperme desséché à l'air. Les parois des cellules se montrent surtout racornies.

Dans le haut de la figure, on voit les cellules oléifères[1]); dans l'une d'elles, on a, outre le noyau, reproduit quelques petits corps ronds. La Fig. 4 fait voir ces cellules dans une coupe tangentielle passant par la partie dorsale du grain; vues ainsi, elles n'ont ni forme ni disposition régulière.

Relativement au contenu de ces cellules, on trouve plusieurs indications anciennes et nouvelles, dont nous citerons les principales. M. Hartig[2]) dit de l'endosperme des céréales que la couche de cellules extérieure sans exception ne renferme que du „Klebermehl" à grains fins, et indique en même temps (l. c. p. 121) que les grains de protéine des céréales restent longtemps dans l'eau sans se dissoudre, ce qui doit beaucoup faciliter l'observation.

M. S. L. Schenk[3]) a fait une recherche spéciale sur les cellules non amylifères de l'endosperme du froment, et trouvé qu'elles ne renferment pas beaucoup de protéine. Le réactif de Millon n'en colore pas le contenu, tandis que les cellules amylifères se colorent très fortement. M. Schenk appelle avec raison l'attention sur l'insuffisance de la réaction de l'iode pour constater la présence des substances protéiques. Suivant lui, les petits grains réfringents qu'on trouve dans les cellules sont insolubles dans les acides étendus et le suc gastrique artificiel, et ne peuvent par conséquent se composer de protéine („Kleber"). Les réactifs essayés pour décéler différentes autres substances ont donné un résultat négatif.

Chose singulière, la richesse des cellules en matières grasses a échappé à l'attention de M. Schenk, bien qu'elle ait été mentionnée par plusieurs auteurs, entre autres par M. Sachs et, avant lui, par MM. Payen et Trecul.

En examinant dans de l'eau des coupes d'un grain d'orge mûr (gelbreif) traité depuis longtemps par l'alcool, j'ai observé dans les cellules susmentionnées un réseau protoplasmatique ou systéme de cavités bien distinct. Les petits grains réfringents étant, d'après M. Schenk,

---

[1]) Le nom allemand „Kleberzellen" est une combinaison très peu heureuse de la dénomination „Klebermehl" (grains d'aleurone) de M. Hartig et du mot „Zellen". Les cellules en question n'ont rien de commun avec le „Kleber" (gluten). Cette substance est un produit qu'on extrait de la farine du froment.

[2]) Entwichelung des Pflanzenkeims 1858.

[3]) Anatomisch-physiologische Untersuchungen, Wien 1872, p. 3.

insolubles dans les dissolvants ordinaires des substances protéiques, il était à supposer que les cavités avaient renfermé des globules ou des gouttes de graisse qui s'étaient dissoutes dans l'alcool. En soumettant au même examen des coupes d'endosperme desséché, on observe dans les cellules non amylifères, outre de grosses gouttes huileuses, un certain nombre de petits corps ronds très réfringents et de grosseur peu variable.

Ce sont ces corps qui, en général, passent pour être des grains de protéine; mais comme ils sont colorés en brun noir par l'acide osmique et ne se colorent que lentement en jaune par la dissolution d'iode, il en résulte qu'ils sont formés de matière grasse. Ce sont évidemment ces corps que M. Schenk a vus et qu'il a déclaré avec raison ne pas être de nature protéique. Outre ces globules de graisse, j'ai constaté la présence de fragments d'un réseau protéique à mailles fines qui tantôt est coloré par l'acide osmique et tantôt pas.

En observant les préparations dans de la glycérine concentrée ou iodée, il est difficile de décider si les petits grains réfringents qu'on voit alors sont des grains d'aleurone ou des globules de graisse, et comme des grains d'äleurone facilement solubles ont été confondus avec des gouttes d'huile, j'ai emqloyé la méthode de M. Pfeffer[1]), qui passe pour être à l'abri de cette erreur. D'ailleurs, ainssi qu'il a été dit plus haut, M. Hartig considère les grains d'aleurone des Graminées comme appartenant aux grains les plus résistans. Des coupes tangentielles faites à sec de grains d'orge, de froment et de seigle (on obtient ainsi de plus grandes lamelles formées seulement des cellules dont il s'agit) restèrent plusieurs jours dans une dissolution à 2 % de bichlorure de mercure dans l'alcool absolu, traitement après lequel les grains d'aleurone même les plus facilement solubles, doivent être insolubles dans l'eau. Les préparations furent ensuite, comme le recommande M. Pfeffer, mises directement dans de l'eau et examinées dans de la glycérine, en général après avoir été colorées avec la dissolution d'iode ou le bleu d'aniline. On n'y découvrit jamais qu'un réseau plus ou moins régulier sans grains (Fig. 4, b).

Si les préparations sont de nouveau traitées par l'alcool, puis par l'éther et qu'on achève de les sécher à une douce chaleur artificielle, on peut, en les recouvrant d'une glycérine épaisse et en se débarrassant avec une aiguille des grosses bulles d'air qui se forment au-dessus de la préparation, observer de petites bulles d'air rondes et sombres dans les nombreuses petites cavités (Fig. 4, c), qui par conséquent doivent avoir été vides. Il était donc très vraisemblable que, dans les cellules non amylifères de l'endosperme, il n'y avait pas des grains d'aleurone mais des globules de graisse logés dans un réseau protéique.[2])

Mais en préparant des coupes de grains d'orge secs pour les mettre dans du baume de Canada, j'observai que les petits grains

[1]) Pfeffer: Untersuchungen über die Proteinkörner, Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Botanik, Bd. 8, 1872, p. 440—441, 445.

[2]) Confr. Bot. Centralblatt, 1883, Bd. 15, p. 305.

pendant la germination et sert sans doute ainsi comme réserve. Les cellules contenant des substances grasses ne sont pas amylifères, mais renferment des grains d'aleurone.

La Fig. 1, Pl. III, est une coupe transversale de la partie dorsale du grain et représente un fragment de l'endosperme. La préparation, qui provient d'un grain dur et sec, a été traitée par une dissolution bien fluide de baume de Canada dans le chloroforme, et n'est par suite que peu gonflée; son aspect répond à peu près à celui de l'endosperme desséché à l'air. Les parois des cellules se montrent surtout racornies.

Dans le haut de la figure, on voit les cellules oléifères[1]); dans l'une d'elles, on a, outre le noyau, reproduit quelques petits corps ronds. La Fig. 4 fait voir ces cellules dans une coupe tangentielle passant par la partie dorsale du grain; vues ainsi, elles n'ont ni forme ni disposition régulière.

Relativement au contenu de ces cellules, on trouve plusieurs indications anciennes et nouvelles, dont nous citerons les principales. M. Hartig[2]) dit de l'endosperme des céréales que la couche de cellules extérieure sans exception ne renferme que du „Klebermehl" à grains fins, et indique en même temps (l. c. p. 121) que les grains de protéine des céréales restent longtemps dans l'eau sans se dissoudre, ce qui doit beaucoup faciliter l'observation.

M. S. L. Schenk[3]) a fait une recherche spéciale sur les cellules non amylifères de l'endosperme du froment, et trouvé qu'elles ne renferment pas beaucoup de protéine. Le réactif de Millon n'en colore pas le contenu, tandis que les cellules amylifères se colorent très fortement. M. Schenk appelle avec raison l'attention sur l'insuffisance de la réaction de l'iode pour constater la présence des substances protéiques. Suivant lui, les petits grains réfringents qu'on trouve dans les cellules sont insolubles dans les acides étendus et le suc gastrique artificiel, et ne peuvent par conséquent se composer de protéine („Kleber"). Les réactifs essayés pour décéler différentes autres substances ont donné un résultat négatif.

Chose singulière, la richesse des cellules en matières grasses a échappé à l'attention de M. Schenk, bien qu'elle ait été mentionnée par plusieurs auteurs, entre autres par M. Sachs et, avant lui, par MM. Payen et Trecul.

En examinant dans de l'eau des coupes d'un grain d'orge mûr (gelbreif) traité depuis longtemps par l'alcool, j'ai observé dans les cellules susmentionnées un réseau protoplasmatique ou systéme de cavités bien distinct. Les petits grains réfringents étant, d'après M. Schenk,

[1]) Le nom allemand „Kleberzellen" est une combinaison très peu heureuse de la dénomination „Klebermehl" (grains d'aleurone) de M. Hartig et du mot „Zellen". Les cellules en question n'ont rien de commun avec le „Kleber" (gluten). Cette substance est un produit qu'on extrait de la farine du froment.

[2]) Entwichelung des Pflanzenkeims 1858.

[3]) Anatomisch-physiologische Untersuchungen, Wien 1872, p. 3.

insolubles dans les dissolvants ordinaires des substances protéiques, il était à supposer que les cavités avaient renfermé des globules ou des gouttes de graisse qui s'étaient dissoutes dans l'alcool. En soumettant au même examen des coupes d'endosperme desséché, on observe dans les cellules non amylifères, outre de grosses gouttes huileuses, un certain nombre de petits corps ronds très réfringents et de grosseur peu variable.

Ce sont ces corps qui, en général, passent pour être des grains de protéine; mais comme ils sont colorés en brun noir par l'acide osmique et ne se colorent que lentement en jaune par la dissolution d'iode, il en résulte qu'ils sont formés de matière grasse. Ce sont évidemment ces corps que M. Schenk a vus et qu'il a déclaré avec raison ne pas être de nature protéique. Outre ces globules de graisse, j'ai constaté la présence de fragments d'un réseau protéique à mailles fines qui tantôt est coloré par l'acide osmique et tantôt pas.

En observant les préparations dans de la glycérine concentrée ou iodée, il est difficile de décider si les petits grains réfringents qu'on voit alors sont des grains d'aleurone ou des globules de graisse, et comme des grains d'âleurone facilement solubles ont été confondus avec des gouttes d'huile, j'ai emqloyé la méthode de M. Pfeffer[1]), qui passe pour être à l'abri de cette erreur. D'ailleurs, ainssi qu'il a été dit plus haut, M. Hartig considère les grains d'aleurone des Graminées comme appartenant aux grains les plus résistans. Des coupes tangentielles faites à sec de grains d'orge, de froment et de seigle (on obtient ainsi de plus grandes lamelles formées seulement des cellules dont il s'agit) restèrent plusieurs jours dans une dissolution à 2 % de bichlorure de mercure dans l'alcool absolu, traitement après lequel les grains d'aleurone même les plus facilement solubles, doivent être insolubles dans l'eau. Les préparations furent ensuite, comme le recommande M. Pfeffer, mises directement dans de l'eau et examinées dans de la glycérine, en général après avoir été colorées avec la dissolution d'iode ou le bleu d'aniline. On n'y découvrit jamais qu'un réseau plus ou moins régulier sans grains (Fig. 4, b).

Si les préparations sont de nouveau traitées par l'alcool, puis par l'éther et qu'on achève de les sécher à une douce chaleur artificielle, on peut, en les recouvrant d'une glycérine épaisse et en se débarrassant avec une aiguille des grosses bulles d'air qui se forment au-dessus de la préparation, observer de petites bulles d'air rondes et sombres dans les nombreuses petites cavités (Fig. 4, c), qui par conséquent doivent avoir été vides. Il était donc très vraisemblable que, dans les cellules non amylifères de l'endosperme, il n'y avait pas des grains d'aleurone mais des globules de graisse logés dans un réseau protéique.[2])

Mais en préparant des coupes de grains d'orge secs pour les mettre dans du baume de Canada, j'observai que les petits grains

---

[1]) Pfeffer: Untersuchungen über die Proteinkörner, Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Botanik, Bd. 8, 1872, p. 440—441, 445.

[2]) Confr. Bot. Centralblatt, 1883, Bd. 15, p. 305.

réfringents n'étaient pas solubles dans le chloroforme. De pareilles coupes, qui avaient séjourné quelque temps dans du chloroforme ou du benzol ($C_6 H_6$), laissaient voir distinctement des grains logés dans un léger réseau (Fig. 4, d) après avoir été mis dans du baume de Canada. Je m'assurai que ce n'étaient pas des cavités en séchant à une douce chaleur artificielle les coupes traitées par le chloroforme, et en les mettant dans de la glycérine, et ne découvris alors pas autre chose que des fentes fines, irrégulières et remplies d'air entre les petits grains ronds, fentes dues sans doute à la contraction du réseau appauvri par le départ de la matière grasse.

Les grains ainsi observés ne pouvant être ni une matière grasse ni de l'amidon, doivent donc être des grains d'aleurone. Les indications de MM. Hartig et Schenk ne concernent pas par conséquent les grains d'aleurone, mais les petites gouttes de matière grasse qui doivent se séparer du réseau lorsqu'on le traite par des liquides aqueux.

Les grains d'aleurone, chez l'orge, le seigle et le froment sont par contre très fortement influencés par l'eau malgré l'action de l'alcool mercuré, et, en se gonflant, donnent au contenu des cellules l'aspect d'un réseau dont les vides sont les vacuoles des grains d'aleurone, et dont les cloisons sont formées par la fusion de la masse mitoyenne vide de matière grasse avec les couches extérieures de ces grains. L'alcool mercuré ne se borne pas à enlever la matière grasse, mais empêche aussi la destruction du contenu des cellules d'aller plus loin qu'il ne vient d'être dit, tandis que ce contenu, dans les coupes non durcies, est rendu très indistinct par l'influence de l'eau et le départ des gouttes de matière grasse.

Les trois couches de cellules extérieures non amylifères de l'endosperme contiennent donc des grains d'aleurone peu résistants logés dans une masse fondamentale protoplasmatique riche en matières grasses. Les noyaux sont très distincts. Les parois sont épaisses et renferment une assez grande quantité de cellulose. Chez le seigle et le froment, la couche de cellules extérieure de l'endosperme est identique avec les trois de l'orge.

En dedans de ces trois couches de cellules se trouvent les cellules amylifères de l'endosperme, dont les premières sont plus petites et ont des parois plus épaisses et plus fermes que celles qui sont situées plus bas. Les grains d'amidon sont logés dans une masse protéique peu grumeleuse qui, en coupes minces, se présente comme un réseau. On n'y trouve pas des grains d'aleurone proprement dits; les gruaux sont trop indistincts pour mériter cette dénomination. Les grains d'amidon, dans les cellules placées vers la périphérie[1]) et à la pointe du grain, sont bien moins nombreux que

[1]) La région autour de la fente ou du pli qui pénètre dans le milieu de l'endosperme appartient à la périphérie primitive de ce dernier. Les grains d'amidon ne sont également ici que de grosseur moyenne ou même plus petits. La masse ou le réseau protéique, quoique fort, n'est pas aussi épais que dans les autres cellules amylifères moins comprimées de la périphérie.

plus bas dans l'endosperme; comme le montre la Fig. 1, ils sont à peu près d'égale grosseur et beaucoup plus petits que les gros grains des cellules intérieures. Plus on avance vers les parties centrales, plus est grande la richesse des cellules en amidon et plus augmente la grosseur des grains; à partir de la deuxième ou de la troisième couche, apparaissent les tout petits grains d'amidon, qui sont logés de la même manière que les gros et mélangés avec eux.

Le réseau protéique dans les cellules devient de plus en plus fin vers le centre du grain, mais ne manque nulle part. Sur les coupes minces des grains durs ou glacés secs, dont le contenu des cellules de l'endosperme n'est pas aussi friable que chez les grains tendres, on distingue très nettement le réseau en les mettant dans une dissolution assez fluide de baume de Canada. Les grains d'amidon ayant à très peu près le même pouvoir réfringent que le baume, on ne les y voit pas, mais ils ont une ressemblance frappante avec des cavités dans la masse fondamentale riche en protéine, le protoplasme. Chez les grains tendres dont le contenu des cellules de l'endosperme est facilement friable, on a cru quelquefois que le réseau protéique faisait défaut, notamment dans les cellules intérieures. Ce n'est cependant pas le cas. Si l'on durcit les grains (de préférence, après les avoir laissés tremper 1 à 2 jours dans l'eau) avec de l'alcool absolu, et les traite ensuite, suivant le procédé de M. Strasburger, par un mélange, d'alcool et de glycérine, on peut facilement obtenir des coupes minces mais cohérentes. Qu'on opère avec des grains tendres ou des grains glacés, il est toujours facile, en le colorant, de rendre le réseau distinct, surtout si la préparation, après avoir été lavée dans l'alcool, l'éther ou le chloroforme, est mise dans du baume de Canada. Le réseau protéique ne semble pas se teindre si fortement dans les cellules amylifères intérieures que dans les cellules extérieures.

Le réseau peut aussi être rendu distinct (après le lavage, si l'on emploie des grains durcis) en traitant pendant 15—30 minutes, sur le porte-objet, la préparation par l'acide nitrique étendu (15 à 25 %) additionné de quelques gouttes d'aloès nitrique[1]). Après que la préparation, qui reste toujours sur le porte-objet, a été lavée avec précaution avec de l'eau, on ajoute de la glycérine et place le couvre-objet.

La Fig. 5, Pl. III, montre le réseau de quelques-unes des cellules amylifères extérieures sur le côté du grain, et la Fig. 8, celui d'une cellule plus profondément située.

Le noyau des cellules amylifères est tout à fait indistinct.

Je n'ai pas trouvé de méats intercellulaires dans l'endosperme de l'orge. Les parois cellulaires de l'endosperme forment un tout et il n'y â pas de cellules libres. Les nombreuses figures qui représentent, chez l'orge, le seigle ou le fromeut, des cellules isolées chacune avec ces propres parois, ont besoin d'une rectification.

---

[1]) „Liqour picronitricus", „Aloebeize", „Scheidewasserbeize".

Les grains d'orge et de froment séchés à l'air sont appelés „tendres" lorsqu'ils sont mous et que leur section présente un endosperme d'un blanc de neige velouté, qui est très poreux et friable; on dit qu'ils sont „glacés", lorsque de l'endosperme est dur, ferme, diaphane et que la section en est plus ou moins foncée. Il existe un grand nombre de transitions entre les deux types. Dans les grains demi-tendres, et les parties intérieures de l'endosperme sont ordinairement tendres, et les parties extérieures, glacées.

MM. Nowacki et Grønlund ont respectivement trouvé pour le froment et l'orge que, dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, il y avait de l'air entre les grains d'amidon, tandis qu'il n'y en avait pas dans celles des grains glacés. M. Samsøe Lund a cependant indiqué dans l'endosperme de grains glacés la présence de quelques bulles d'air, et M. Grønlund a plus tard émis l'opinion qu'on trouve tantôt plus tantôt moins de bulles d'air dans les grains tendres que dans les grains glacés.

Les observateurs qui précèdent ont pratiqué leurs coupes à l'aide d'un rasoir, suivant la méthode ordinaire. En opérant ainsi, il arrive presque toujours que les coupes des grains glacés secs se brisent et que l'air s'y introduit, ce qui rend le résultat incertain.

On évite cet inconvénient en procédant comme il suit. Après avoir coupé le grain et en avoir lissé les surfaces mises à nu avec le rasoir, on en presse les morceaux, par le côté de la section, dans un mélange très épais de baume de Canada et de chloroforme, en ayant soin qu'aucune bulle d'air ne pénètre entre les surfaces lissées et le baume. Celui-ci est mis sur on porte-objet ou un couvre-objet pas trop petit, que, pour plus de fixité, on colle sur une petite plaque de verre avec de la gomme arabique.

Après que le baume est devenu solide et dur, on enlève de chaque morceau avec une petite lime ou un couteau une quantité suffisante pour qu'il en reste une plaque d'une épaisseur convenable, dont on lisse la surface avec le rasoir. La préparation est ensuite recouverte d'une couche de baume et mise sous un porte- ou couvre-objet, et après l'avoir laissée sécher, on dissout la gomme arabique dans de l'eau froide et enlève la plaque de verre.

On obtient ainsi avec les grains glacés des plaques tout à fait diaphanes qui ne renferment pas des bulles d'air, tandis qu'on en trouve un grand nombre dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, et elles sont d'autant plus nombreuses qui l'endosperme est plus tendre.

Comme les cellules de l'endosperme des grains tendres se désagrègent si facilement, les espaces remplis d'air doivent être distribués dans toute leur masse et non pas seulement sur leurs parois. Qu'ils ne remplacent pas le réseau protéique, cela résulte de ce qui a été dit p. 72.

C'est donc la présence d'espaces remplis d'air dans les cellules amylifères de l'endosperme qui caractérise les grains tendres. Outre cette particularité, on a aussi cherché d'autres différences anatomiques entre les deux espèces de grains. MM. Nowacki et Grønlund ont ainsi émis l'opinion que le réseau protéique manquait totalement

ou en partie dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, mais nous avons vu que c'est inexact.

M. Holzner croit que les grains d'orge glacés renferment un nombre relativement moins grand de gros grains d'amidon que les grains d'orge tendres. M. Thausing partage cette opinion et fait, bien à tort, complètement abstraction de la présence ou de l'absence des espaces remplis d'air. Les cellules extérieures les plus glacées des grains demi-tendres ne renferment pas de tout petits grains d'amidon, mais on les trouve mélangés avec les gros en nombre d'autant plus grand qu'on pénètre davantage au milieu du grain, c'est-à-dire dans les parties les plus tendres. De plus, l'endosperme tendre ne peut avoir l'aspect pulvérulent ou farineux, quelle que soit la grosseur des grains d'amidon. lorsque les espaces remplis d'air font défaut. Enfin on ne peut constater aucun changement relativement aux grains d'amidon, lorsque les grains glacés, après avoir été trempés dans l'eau et puis séchés, sont devenus tendres, de même que le réseau protéique semble n'avoir subi aucune modification, abstraction faite des espaces remplis d'air qui s'y sont formés.

Autant qu'on en peut juger sans recourir à des numérations qui seraient d'une exécution difficile, il semble qu'en comparant des parties correspondantes de l'endosperme (et ce sont les seules qu'on doive comparer) dans des grains durs et tendres de la même récolte, les premiers rénferment un bien plus grand nombre de petits grains d'amidon que les seconds. On peut cependant rencontrer des différences analogues dans une récolte ne comprenant que des grains glacés. Il en est de même relativement à l'étendue du réseau protéique où les grains d'amidon sont logés.

Que la couleur et l'éclat de l'enveloppe soient en grande partie déterminés par l'intérieur diaphane et glacé ou opaque et tendre du grain, cela est évident. Lorsqu'on écrase des grains glacés, les paillettes changent aussitôt de teinte. Celles qui accompagnent ces grains sont souvent très blanches. L'épaisseur de l'enveloppe, comme l'a déjà constanté M. Grønlund, n'est pas dans un rapport déterminé avec le caractère tendre ou glacé de l'endosperme.

Quant à la forme et à la grandeur des grains, il ne semble y avoir aucune règle. Dans la même récolte, les grains glacés seront très souvent les plus longs et les moins beaux.

Explication des Planches.

Planche I.

Fig. 1, schématisée comme les Fig. 2 et 3. Grossissement c. $\frac{16}{1}$. Coupe longitudinale médiane de l'ovaire de l'orge peu après la fécondation. A gauche, le côté ventral; à droite, le côté dorsal. *a*, tissu conducteur; *b*, sommet des téguments; *d*, faisceau vasculaire dans la suture ventrale; *m*, micropyle, qui, dans les jeunes ovaires, est tourné plus de côté; *se*, sac embryonnaire avec son contenu; *chl*, cellules chlorophylliennes.

Fig. 2, c. $\frac{16}{1}$. Coupe longitudinale perpendiculaire au plan médian; même phase que la Fig. 1. La coupe descend obliquement à travers les stigmates et le tissu conducteur. *a*, *b* et *chl*, comme dans la Fig. 1; *c*, faisceaux vasculaires, qui se perdent en haut dans les stigmates.

Fig. 3, c. $\frac{21}{1}$. Coupe transversale de l'ovaire menée par le milieu de la cavité ovarienne. L'endosperme se compose d'une couche de cellules nues. *a*, *b*, *c*, *d*, faisceaux vasculaires; *e*, point d'attache de l'ovule; *chl* et *ie*, comme dans la Fig. 8.

Fig. 4—7, c. $\frac{4}{1}$. Coupes longitudinales de l'ovaire de l'Hordeum macrolepis var. nigr. 4 et 5, pendant la fécondation; 6 et 7 peu après; *l*, paléoles.

Fig. 8, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 3; *e*, épiderme; *p*, parenchyme incolore, amylifère; *chl*, cellules vertes et amylifères allongées dans le sens transversal; *ei*, épiderme de la cavité ovarienne; *ie*, tégument externe; *ii*, téguments interne; *en*, épiderme du nucelle; *n*, reste du nucelle; *end*, endosperme jeune, cellules nues.

Fig. 9, c. $\frac{70}{1}$. Sac embryonnaire avant la fécondation (cfr. Fig. 12).

Fig. 10. Le même peu après la fécondation; orienté comme dans la Fig. 9, avec le même grossissement. Le noyau central (*c*) a peut-être commencé à se diviser; les antipodes (*a*) ne sont plus au fond du sac embryonnaire; dans la préparation, ces cellules se sont détachées de leur place en *x*; *e* & *s*, vésicule embryonnaire et synergides.

Fig. 11, c. $\frac{250}{1}$. Sommet des téguments dans l'ovaire non encore fécondé; *ie*, tégument externe; *ii*, tégument interne, dont la couche intérieure s'est divisée; *en*, épiderme du nucelle. Préparation par la potasse.

Fig. 12 = Fig. 9, c. $\frac{250}{1}$. Les lettres comme dans la Fig. 10. Les cordons du protoplasme ont été dessinés trop épais. Un des antipodes s'est détaché pendant la préparation.

Eig. 13, c. $\frac{70}{1}$. Coupe transversale de l'endosperme dans un grain long de 4,5 millimètres. *f*, côté du sillon (ventral).

Fig. 14, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 13.

Fig. 15, c. $\frac{4}{1}$. Coupe longitudinale du fruit dans la même phase.

Fig. 16, c. $\frac{120}{1}$. Partis de l'endosperme, *end*, avec quelques antipodes, *a*. La figure correspond aux Fig. 3 et 8.

Fig. 17, c. $\frac{250}{1}$. *a-g*, Différentes formes de noyaux de cellules en train de se diviser. Correspond aux Fig. 13—15.

Planche II.

Fig. 1, c. $\frac{70}{1}$. Coupe transversale. Moitié de l'endosperme d'un grain long de 5 à 5,5 millim. *s*, ligne de soudure; *o*, cellules de la couche extérieure qui ont déjà commencé à se différencier près du sillon.

Fig. 2, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 1. *s*, comme dans la Fig. 1.

Fig. 3, c. $\frac{4}{1}$. Coupe transversale d'un grain long de 6 à 7 millim. *s*, ligne de soudure, comme dans la Fig. 5. Les parties sombres indiquent les points où se montrent d'abord les grains d'amidon.

Fig. 4, c. $\frac{4}{1}$. Coupe londitudinale du grain dans la même phase; *emb*, embryon; *end*, endosperme; *e*, ligne d'attache de l'ovule.

Fig. 5, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 3 (*m*). *s*, ligne de soudure; *o*, cellules ne renfermant jamais de l'amidon et dont il n'y a encore qu'une seule couche (excepté près du sillon); l'amidon se forme dans les cellules voisines de *s*.

Fig. 6, c. $\frac{250}{1}$. Cellules d'endosperme avec de tout jeunes grains d'amidon rendus distincts par du chlorure de zinc iodé.

Fig. 7, c. $\frac{4}{1}$. Coupe longitudinale schématisée d'un grain long de 8,5 millim. *emb*, embryon; *end ab*, endosperme, en partie absorbé et épuisé par l'embryon; *ps*, *pi*, paillettes, qui ont commencé à se fixer au fruit; *e*, ligne d'attache de l'ovule; *n*, reste du nucelle. Au dedans, on voit un long espace vide.

Fig. 8, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale de l'endosperme d'un grain semblable. Partie vue du côté dorsal; *o*, comme dans la Fig. 5.

Fig. 9, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale du péricarpe d'un grain semblable. Partie voisine de la suture ventrale; les lettres comme dans la Pl. I, Fig. 8.

Fig. 10, c. $\frac{250}{1}$. Coupe tangentielle des cellules de la Fig. 8.

Planche III.

Fig. 1, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale d'un endosperme mûr et sec dans du baume de Canada. Partie du côté dorsal d'un grain glacé. *o*, comme dans la Pl. II, Fig. 5.

Fig. 2, c. $\frac{6}{1}$. Coupe longitudinale schématisée d'un grain mûr. *e*, ligne d'attache ou „Pigmentstrang“; les lettres comme dans la Fig. 6 *a*.

Fig. 3, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale de toute l'enveloppe. Partie du côté dorsal traitée par le chlorure de zinc; *p*, paillette; *ep* & *t*, péricarpe et test.

Fig. 4, c. $\frac{250}{1}$. Coupe tangentielle des cellules oléifères (*o* de la Fig. 1); les parois eu sont gonflées; pour leur contenu, voir le texte.

Fig. 5, c. $\frac{360}{1}$. Cellules amylifères de la région périphérique de l'endosperme sur le côté du grain. On a enlevé les grains d'amidon pour faire voir le réseau protéique; conf. Fig. 8.

Fig. 6, c. $\frac{21}{1}$. Partie du sillon d'un grain encore vert et assez développé (Fig. 7, *f*). Coupe transversale. *d*, faisceau vasculaire; *e*, point d'attache; *n*, reste du nucelle; *o*, cellules oléifères de l'endosperme; *h*, cavité remplie de liquide; *p*, paillette.

Fig. 6 *a*, c. $\frac{21}{1}$. Fragment de la même partie dans un grain complètement développé (Fig. 7 *g*), coupe transversale; les lettres comme dans la Fig. 6; *h* apparaît seulement comme une raie étroite.

Fig. 7 *a-g*, c. $\frac{4}{1}$. Coupes transversales passant par le milieu d'un grain dans diverses phases de son développement.

Fig. 8, c. $\frac{360}{1}$. Réseau protéique d'une cellule amylifère dans les parties centrales de l'endosperme. Fragment.

Sur un apparail à température constante.

Par

L. Knudsen.

Lorsqu'en chauffant avec du gaz, on veut maintenir une température très constante, il ne suffit pas d'employer un thermo-régulateur. Dans tous les apparails de ce genre, qui, en principe, sont construits comme le thermo-régulateur de M. Reichert (voir Fresenius, Zeitschr. f. an. Chemie 1872, p. 35), où un liquide ou un gaz, par son changement de volume, règle l'écoulement du gaz à la lampe soit directement, soit indirectement en agissant sur une colonne de mercure ou un corps solide, il arrive en effet toujours que, si, pendant la régulation, l'orifice d'arrivée est alternativement ouvert et fermé, l'allumage et l'extinction de la lampe ont lieu à une température plus élevée lorsque la pression du gaz est forte que lorsqu'elle est faible; et si, au lieu de fermer complètement l'orifice, on ne le ferme qu'en partie, la fermeture doit être plus complète à une haute qu'è une basse pression pour produire le même changement dans la grandeur de la flamme. On voit donc que la température réglée par le thermo-régulateur sera, dans tous les cas, d'autant plus élevée que la pression du gaz sera elle-même plus grande. Le seul thermo-régulateur qui, sous ce rapport, soit indépendant de la pression, est celui construit par M. Scheibler (v. Fresenius, Zeitschr. f. an. Chemie 1868, p. 88), mais il est difficile de le maintenir longtemps en bon état. Il va sans dire que le changement ainsi produit dans la température par une pression variable, peut être rendu aussi petit qu'on voudra par l'emploi de thermo-régulateurs suffisamment grands, mais c'est ordinairement incommode et coûteux. Sous ce rapport, les régulateurs dont l'action est fondée sur la dilatation de substances gazeuses, et notamment ceux qui sont basés sur les variations de tension de vapeurs saturées avec la température, ont un grand avantage, comme ils n'ont pas besoin d'être bien grands pour annuler l'influence de la pression variable du gaz, mais ils ont tous le défaut d'être à un haut degré dépendants de la pression barométrique, d'où il suit qu'ils sont très peu

sûrs et ne peuvent jamais, pendant longtemps, maintenir une température constante.

Dans ce qui précède, il n'a été question que du gaz que reçoit la lampe par l'intermédiaire du thermo-régulateur. Mais il est en général nécessaire et, en tout cas, pratique d'employer en même temps une flamme de sûreté afin que, si le régulateur intercepte l'afflux du gaz, on soit sûr que la lampe se rallumera lorsque le gaz arrivera de nouveau. Même si cette flamme est rendue aussi petite que possible, elle sera cependant toujours influencée d'une manière différente selon que la pression du gaz variera, et empêchera en tout cas de régler bien exactement le thermo-régulateur (comp. la méthode de réglage décrite plus bas; on y emploie une flamme de sûreté aussi grande que possible, et c'est justement la principale cause pour laquelle les oscillations de la température deviennent si petites). Il va sans dire que ni le régulateur de M. Scheibler, ni les grands régulateurs construits d'après le principe de M. Reichert, ne peuvent remédier à l'erreur qui résulte des variations dans la grandeur de la flamme de sûreté.

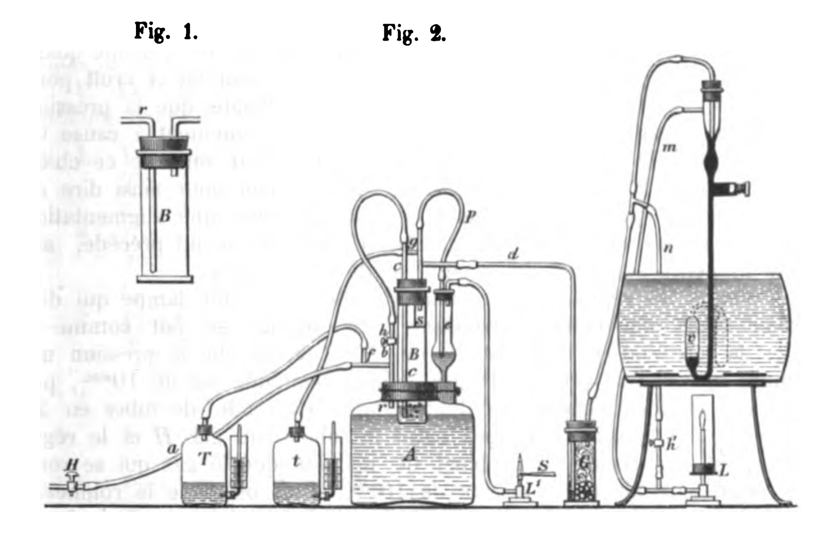
Comme exemple de l'influence qu'un changement dans la pression du gaz peut exercer sur la température à laquelle on règle un thermo-régulateur, nous citerons le suivant: un régulateur de Reichert de grandeur ordinaire, mais dont l'orifice latéral du tube d'arrivée du gaz était fermé (par conséquent sans flamme de sûreté), ayant été réglé à la température de 53 ^{0} C. et le gaz étant maintenu à une pression constante de $4^{mm.}$ d'eau, je constatai que la temperature oscillait entre 52,75 et 53,25 ^{0} C. Le pression du gaz était-elle ensuite portée à $15^{mm.}$ d'eau, sans qu'on touchât à la vis servant à régler le thermo-régulateur, la température variait entre 54,5 et 55,5 ^{0} C. Dans les deux cas, le gaz brûlait sans interruption. En chauffant davantage avec précaution à l'aide d'une autre lampe et en laissent ensuite refroidir lentement, on observait, dans le premier cas, que le régulateur éteignait la lampe lorsque la température avait atteint 54,5 ^{0} C.. et qu'elle se rallumait lorsque la température était tombée à 54 ^{0} C. Les températures correspondantes, dans le second cas, étaient: 55,75 ^{0} C. et 55,25 ^{0} C.

On voit donc que la pression du gaz a une influence très sensible et que, pour maintenir la température constante au moyen d'un thermo-régulateur, il est en même temps nécessaire de maintenir la pression du gaz invariable. On peut obtenir ce résultat à l'aide de l'appareil représenté Fig. 2.

Le principe de cet appareil est le suivant: le gaz étant amené par le tube r, sous une pression de $p^{mm.}$ d'eau, dans le vase B (Fig. 1) et de là à une lampe, la pression en B ($q^{mm.}$) sera moindre que p, et l'équilibre sera établi quand la quantité de gaz qui, dans un temps donné et avec une différence de pression $q^{mm.}$, peut s'écouler par le brûleur de la lampe sera égale à celle qui, dans le même temps et avec une différence de pression $(p-q)^{mm.}$ peut affleur par l'orifice du tube r. Si maintenaant la pression du gaz affluant divient $(p+a)^{mm.}$, et qu'on verse et même temps de l'eau dans B de manière que le tube r y plonge de $a^{mm.}$, quantité de gaz qui, dans l'unité de

temps, sort du tube r sera assez exactement déterminée par l'excès de pression à l'orifice de r, qui est $(p + a) - a = p^{mm.}$, par conséquent le même qu'auparavant, et la pression dans B sera donc aussi dans ce cas égale à $q^{mm.}$[1]). Le problème à résoudre est par suite

Fig. 1. Fig. 2.



de faire monter l'eau dans B d'autant de millim. que la pression du gaz croît. On y arrive de la manière suivante; le réservoir A (Fig. 2), qui est hermétiquement fermé et presque entièrement rempli d'huile, communique directement par r avec la conduite de gaz, et celui-ci est amené par b, qui est muni d'un robinet h, dans le tube B, auquel il convient de donner un diamètre de $3^1/_2$ centim. environ: après y avoir traversé une couche de liquide plus ou moins haute, le gaz se rend par d à la lampe. Le bocal cylindrique G, qui est rempli de coton non pressé, mais cependant arrangé de manière qu'il ne s'y trouve pas de grands canaux par lesquels le gaz puisse passer, ne sert qu'à retenir les gouttelettes d'huile entraînées par ce dernier. On peut, dans le même but, placer un écran s dans le tube B. Les

---

[1]) En prenant pour point de départ la formule de la vitesse théorique d'écoulement, le poids du gaz qui, dans l'unité de temps, s'écoule du tube r sera plus grand, même si la différence de pression ne varie pas, lorsque la pression du gaz est de $(p + a)^{mm.}$ que lorsqu'elle est de $p^{mm.}$, les poids étant proportionnels aux racines carrées des densités aux pressions $(p + a)^{mm}$ et $p^{mm.}$ Mais celles-ci sont à peu près égales, de sorte que même en tenant compte de la différence, la pression $q^{mm.}$ en B n'en recevra qu'un très petit accroissement. J'ai aussi trouvé que l'augmentation de q par un fort accroissement de p n'est accusée par les indicateurs de pression que lorsque la différence entre p et q est relativement petite.

tubes a, r et la partie de d qui est comprise entre B et G doivent avoir un calibre d'au moins $6^{mm.}$, les premiers pour que les variations dans la pression du gaz puissent rapidement réagir sur la pression en A, le dernier pour que les gouttelettes d'huile entraînées n'obstruent pas les tubes. Le diamètre de A étant grand par rapport à celui de B, une augmentation de $a^{mm.}$ dans la pression du gaz fera, à très peu de chose près, monter le liquide dans B de la même quantité, ce qui est dû à la circonstance qui la pression en A croît pour ainsi dire instantanément avec celle du gaz, tandis que la pression en B ne peut, en comparaison, croître que lentement à cause de l'écoulement de gaz qui a lieu par la lampe. Par suite de ce changement dans la hauteur du liquide, qui survient pour ainsi dire en même temps que le changement dans la pression, une augmentation dans la pression du gaz affluant n'aura, d'après ce qui précède, aucune influence sur celle du gaz qui quitte le régulateur.

Met-on le régulateur en communication avec une lampe qui doit brûler sous une pression constante, le réglage se fait comme il suit: la pression désirée est-elle de $5^{mm.}$, tandis que la pression minimum que pourra prendre le gaz dans la conduite est de $10^{mm.}$, par ex., on diminue celle-ci par l'intercalaton (à l'aide de tubes en T) d'une ou de plusieurs lampes entre le robinet du gaz H et le régulateur, et en réglant ce robinet de manière que le gaz qui se rend au régulateur ait une pression de $10^{mm.}$ Puis on règle le robinet h jusqu'a ce que la pression du gaz qui sort du régulateur soit de $5^{mm.}$, en veillant toujours à ce que celle du gaz qui y entre ne varie pas, et il suffit pour cela de régler de nouveau au besoin le robinet H. A-t-on ainsi obtenu que la pression du gaz qui va au régulateur soit de $10^{mm.}$ et celle du gaz qui le quitte, de $5^{mm.}$, on porte la première pression à $25^{mm.}$, par ex., et plonge le tube c[1]) dans l'huile d'une quantité plus ou moins grande, jusqu'à ce que le gaz sortant ait de nouveau une pression de $5^{mm.}$[2]). L'appareil est alors réglé, et la pression du gaz arrivant au régulateur peut varier au delà de $10^{mm.}$ sans que celle du gaz qui alimente la lampe en soit affectée. Les pressions sont mesurées par les indicateurs de pression T et t, qui sont en communication avec les tubes f et g, lesquels sont fermés avec des tubes en caoutchouc et des pinces à ressort quand l'apparail est réglé.

J'ai d'abord mis de l'eau dans la régulateur, mais elle s'évapore et il en résulte bientôt une augmentation dans la pression du gaz sortant. L'huile d'olive, par la'quelle je l'ai remplacée, ne présente pas cet inconvénient et permet de maintenir pour ainsi dire indéfiniment la pression constante.

---

[1]) Ce tube est à son extrémité inférieure coupé obliquement sous un angle de 45° env.

[2]) On doit de préférence boucher B avec un bouchon en liège luté avec de la cire ou le la laque. En lubréfiant avec de l'huile le trou par lequel passe le tube c, il est facile de relever ou d'enfoncer ce tube, même après un long repos. On procède de même pour le tube e dans la „soupape“ (voir plus bas).

Comme exemples de la manière dont le régulateur fonctionne, je citerai les suivants. Dans chacun d'eux sont indiquées la pression minimum, prise comme point de départ, du gaz arrivant au régulateur, et la pression constante à laquelle l'apparail a été réglé. T et t désignent respectivement les pressions du gaz qui va au régulateur et qui en sort, et les nombres entre paranthèses, les pressions qu'on aurait si l'on empêchait le régulateur de fonctionner en retirant de l'huile le tube *c*.

I. Le régulateur était mis en communication avec une lampe ordinaire de Bunsen.

Ex. 1. Pression minimum: $5^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 5^{mm.} - 16^{mm.} - 35^{mm.}\ (35^{mm.}) - 40^{mm.}\ (40^{mm.})$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.} - 2^{mm.}\ (10^{mm.}) - 2^{mm.}\ (12^{mm.})$

Ex. 2. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $5^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 35^{mm.}\ (35^{mm.}) - 44^{mm.}$
$t = 5^{mm.} - 5^{mm.}\ (12^{mm.}) - 5^{mm.}$

Ex. 3. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constaute: $7^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 27^{mm.} - 35^{mm.} - 45^{mm.}\ (45^{mm.})$
$t = 7^{mm.} - 7\frac{1}{2}^{mm.} - 8^{mm.} - 8\frac{1}{2}^{mm.}\ (25^{mm.})$

Ex. 4. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.} - 35^{mm.}\ (35^{mm.})$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.} - 2^{mm.}\ (5^{mm.})$

Ex. 5. Pression minium: $15^{mm.}$; pression constante: $10^{mm.}$
$T = 15^{mm.} - 30^{mm.} - 36^{mm.}\ (36^{mm.}) - 46^{mm.}\ (46^{mm.})$
$t = 10^{mm.} - 10^{mm.} - 10^{mm.}\ (22^{mm.}) - 10^{mm.}\ (28^{mm.})$

II. Le régulateur était mis en communication avec 3 lampes de Bunsen, dont l'une avec un brûleur à très large ouverture[1]).

Ex. 1. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.}\ (30^{mm.}) - 40^{mm.}$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.}\ (5^{mm.}) - 2^{mm.}$

Ex. 2. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $5^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 35^{mm.}\ (35^{mm.})$
$t = 5^{mm.} - 5^{mm.}\ (12^{mm.})$

Ex. 3. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $7^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.}\ (30^{mm.})$
$t = 7^{mm.} - 7^{mm.}\ (18^{mm.})$

Ex. 4. Pression minimum: $15^{mm.}$; pression constante: $10^{mm.}$
$T = 15^{mm.} - 32^{mm.}\ (32^{mm.}) - 38^{mm.}$
$t = 10^{mm.} - 10^{mm.}\ (20^{mm.}) - 10^{mm.}$

Le régulateur ne peut, à cause de la faible fluidité de l'huile, arrêter les oscillations instantanées dans la pression du gaz. Mais elles n'exercent aucune influence lorsque le régulateur doit être employé pour obtenir une température constante, comme il est à supposer qu'elles s'annulent mutuellement.

---

[1]) **Il va sans dire que le nombre des lampes que le régulateur a à alimenter avec du gaz à pression constante doit se régler d'après le diamètre des canaux par lesquels le gaz devra passer.**

Si l'on rétrécit ou ferme la conduite *d* par laquelle passe le gaz qui sort du régulateur, la pression augmentera peu à peu jusqu'à devenir, dans le dernier cas, égale à celle du gaz affluant. C'est donc ce qui aura lieu lorsque, entre le régulateur de pression et la lampe, on intercalera un thermo-regulateur, et que ce dernier interceptera en partie ou en totalité le courant de gaz qui alimente la lampe. Le régulateur de pression cessera alors de fonctionner, et si l'occlusion est complète, la pression du gaz qui arrive au thermo-régulateur deviendra égale à la pression variable qui règne dans la conduite. Pour l'empêcher, on établit une „soupape" qui permet au gaz de se rendre par le tube *e* à la lampe L^1, en même temps qu'il va par *d* à la lampe *L*. Le tube *e*, dont l'extrémité inférieure est coupée obliquement sous un angle de 45° environ, plonge dans l'huile à une profondeur variable suivant la pression constante qu'on veut avoir pour le gaz qui alimente la lampe *L*. La flamme de sûreté *S* sert à allumer le gaz qui doit passer par la soupape. Si, dans ces circonstances, l'ouverture qui, dans le thermo-régulateur, livre passage au gaz est rétrécie ou fermée, le gaz s'échappera par la lampe L^1 sans que le régulateur de pression cesse de fonctionner, et par conséquent sans que la pression du gaz qui se rend ou thermo-régulateur augmente. En procédant ainsi on perd, il est vrai, une certaine quantité de gaz, mais si la pression constante choisie n'est pas plus haute qu'il n'est nécessaire, et que la température environnante ne varie pas trop, elle est toujours très faible (voir plus bas). Comme la lampe L^1 s'éteint et se rallume constamment, il est bon, comme l'indique la Fig. 2, d'en enlever le tuyau pour empêcher que la flamme n'y descende. Afin de faciliter autant que possible le passage du gaz par la soupape, il faut donner une grande ouverture au bec de L^1 et la nettoyer à quelques jours d'intervalle.

J'ai employé comme thermo-régulateur un apparail de la forme représentée Fig. 2. C'est dans ces parties essentielles un régulateur de Reichert, seulement avec la différence que le liquide qui, par son changement de volume, détermine la régulation est de l'alcool, dout le réservoir *v* est presque rempli. Le coefficient de dilatation de l'alcool étant bien plus grand que celui du mercure, un pareil régulateur, toutes choses égales d'ailleurs, sera bien plus sensible qu'un régulateur ordinaire de Reichert, mais on ne peut lui donner la forme que celui-ci a en général, à savoir telle qu'il puisse être installé dans un bouchon et même dans des ouvertures très étroites; ici l'ouverture doit être plus grande et le bouchon, s'il en faut un, coupé en deux. Au lieu d'un seul réservoir, il est préférable d'en employer deux (comme on l'a indiqué dans la Fig. 2 par des lignes ponctuées) d'un plus petit diamètre, car on obtient ainsi que le régulateur, sans être moins sensible, suit plus facilement les variations de la température environnante. Si cette forme de la régulateur doit être employée à de hautes températures, on peut remplacer l'alcool du réservoir par de l'aniline[1]. La lampe *L* est alimentée en partie par le thermo-

---

[1]) Ces régulateurs sont construits par M. Jacob, fabricant d'instruments en verre, à Copenhague. Le remplissage doit se faire sur place,

régulateur, en partie par le tube *n*, qui est muni du robinet h^1, ce qui l'empêche de s'éteindre complètement. La flamme de cette lampe doit être protégée contre les courants d'air par un verre suffisamment large, qu'on place sur le tuyau à l'aide d'un bouchon muni d'ouvertures assez grandes pour le passage de l'air. Afin d'empêcher la flamme de la lampe de descendre dans le tuyau, il convient de mettre dans ce dernier un petit morceau de toile métallique en laiton, qu'on y introduii à l'aide d'une baguette. Pour plus de sûreté, on peut aussi, lorsque la flamme est très petite, fermer les ouvertures inférieures du tuyau de la lampe, ou bien encore employer une lampe comme L^1 sans tuyau. Lorsque la pression du gaz est faible, il peut être nécessaire, si l'on veut avoir une flamme suffisamment grande, d'élargir l'ouverture du bec de la lampe.

Pour régler le thermo-régulateur après qu'il a été mis en communication avec le régulateur de pression, on opère comme il suit: après avoir fermé le tube en caoutchouc *m* avec une pince á ressort, de sorte que la lampe n'est plus alimentée que par le robinet h^1, qui est tout ouvert, on ferme de la même manière le tube en caoutchouc *p* et règle le régulateur de pression à la pression qu'on juge nécessaire, mais que doit être un peu inférieure à la pression minimum du gaz. On rétablit énsuite la passage du gaz par *p* et, en fermant avec les doigts le tube *n*, enfonce le tube *p* dans l'huile aussi profondément que cela peut ce faire sans augmenter par là la pression du gaz sortant. Puis, le bain-marie est rempli d'eau à la température qu'on désire de maintenir, et lorsque, en réglant le robinet h^1 et peut-être en rapprochant ou en éloignant en même temps la lampe du bain-marie, on a obtenu que la quantité de gaz que la lampe reçoit par cette voie, même à la température la plus élevée du local, ne peut maintenir celle de l'eau, mais ne lui permet cependant que de tomber très lentement — et plus lentement elle tombe, mieux cela vaut — on ouvre le tube *m* et règle de nouveau le régulateur de pression à la pression constante qui répond à l'ouverture plus grande donnée ainsi à l'écoulement du gaz. Cela fait, on renouvelle en partie l'eau du bain-marie, jusqu'à ce que sa température dépasse celle à laquelle le régulateur doit être réglé d'au moins le même nombre de degréé dont on suppose que la température du local s'abaissera pendant la nuit, et a-t-on la certitude que la lampe, qui maintenant est alimentée par *m* et *n*, pourra relever la température, on remplace une partie de l'eau chaude par de l'eau froide jusqu'à ce que le bain-marie ait la température demandée, après quoi on règle le thermo-régulateur. Si la lampe, lorsque le gaz lui arrive à la fois par *m* et par *n*, ne peut fournir la chaleur nècessaire, il faudra élargir l'ouverture de son brûleur et peut-être remplacer le tube qui amène la gaz au thermo-régulateur par un tube d'un plus grand calibre, mais pas plus grand qu'il n'est nécessaire afin d'éviter

---

mais ne présente aucune difficulté. Quant aux tubes d'arrivée du gaz on peut facilement les fabriquer soi-même, et il est bon d'en avoir de plusieurs calibres. On en coupe l'extrémité un peu obliquement avec une lime humectée d'huile de thérébenthine.

toute perte inutile de gaz. Pour que la soupape fonctionne d'une manière satisfaisante, il faut que le diamètre du tube *e* soit au moins égal à celui de l'orifice d'arrivée du gaz dans le thermo-régulateur, ou, s'il y en a plusieurs communiquant avec le même régulateur de pression, au moins à la somme de ces orifices. Le dinmètre du tube *e* ne peut guère cependant avoir moins de 4 millim.

Lorsque, au bout de 8 jours environ, le mercure du thermo-régulateur s'est terni à la surface, la température du bain-marie s'élève un peu (dans la régulateur dont je me suis servi, de $^1/_{40}$ ^{0} C.) et, si on le laisse en repos, elle augmente encore davantage. Il est facile, dès qu'on la remarque, de remédier à cette élévation de température, car il suffit de desserrer et puis de serrer de nouveau la vis avec laquelle on règle l'apparail, pour que le mercure descende dans la partie évasée du tube et remonte aussitôt. La même régulation s'obtient facilement en observant la grandeur de la flamme avant et après qu'on a tourné la vis. Si on le fait pendant que le régulateur intercepte en partie ou en totalité l'arrivée du gaz, il vaut mieux, pour éviter un trop fort échauffement, de fermer tout à fait avec les doigt le tube *m*. Il est indispensable que les tubes en caoutchouc qu'on emploie, même ceux en caoutchouc noir, soient bien nettoyés intérieurement.

Dans une expérience, le bain-marie employé avait un diamètre de 22 centim. et une hauteur de $16^{cm.}$; à $1^{cm.}$ du fond était établi un double fond de $18^{cm.}$ de diamètre et percé en son milieu d'une ouverture de $4^{cm.}$ Il était rempli d'eau jusqu'à $1^{cm.}$ du bord. Le réservoir du thermo-régulateur avait une longueur de $9^{cm.}$ sur $16^{cm.}$ d'épaisseur. L'eau était couverte d'une mince couche d'huile, mais le bain-marie n'était d'ailleurs nullement isolé. La température se mesurait en partie à l'aide d'un thermomètre fixe disposé de manière que son réservoir se trouvait à mi-hauteur du régulateur, en partie avec d'autres thermomètres mobiles au préalable exactement comparés avec le précédent. Tous les thermomètres indiquaient $^1/_{10}$ ^{0} C. et chaque division correspondante était de $1^{mm.}$ environ. Le thermo-régulateur était réglé à 45,5 ^{0} C. La température se maintint pendant un mois si constante qu'elle varia au plus de $^1/_{10}$ ^{0} C., et on constata avec les thermomètres mobiles que la température des points les plus différents du bain-marie ne s'écartait que de $^1/_{20}$ ^{0} C. environ de celle marquée par le thermomètre central. Dans une autre expériencs où la température constante était de 36 ^{0} C.[1]), mais où l'eau n'était pas couverte d'une couche d'huile, on obtint dans le bain-marie une température tout aussi uniforme et aussi constante en maintenant le

---

[1]) D'après ce qui a été dit plus haut du réglage, la flamme de sûreté ne peut, dans ce cas, à la pression constante choisie pour le gaz ($5^{mm.}$), maintenir à 36 ^{0} C. la température du bain-marie. Mais ferme-t-on *m* et porte-t-on à $10^{mm.}$ la pression du gaz, la flamme de sûreté fait, au bout de 2 h. environ, remonter la température à 44 ^{0} C. On voit donc que la pression du gaz, en changeant la grandeur de la flamme de sûreté, peut avoir une grande influence sur la température.

niveau constant à l'aide d'une bouteille de Mariotte, apparail qu'il est bon également d'employer, même lorsque l'eau est couverte d'une couche d'hnile. Pendant ces expériences, la pression du gaz variait dans les 24 heures de c. 12$^{mm.}$ à c. 55$^{mm.}$ d'eau, et la température du local, entre c. 12 ^{0} C. et 22 ^{0} C. La pression minimum du gaz allant au régulateur de pression était de 10$^{mm.}$ d'eau, et la pression constante du gaz qui en sortait, de 5$^{mm.}$ Dans une expérience où 3 de ces thermostats étaient alimentés à la fois de gaz à la pression de 5$^{mm.}$ par le même de régulateur de pression, et où les températures constantes étaient comprises entre c. 35 ^{0} et c. 50 ^{0} C., la quantité de gaz qui, dans les 24 heures, s'écoulait par la lampe L^1 s'élevait au plus à 300 déc. cubes.

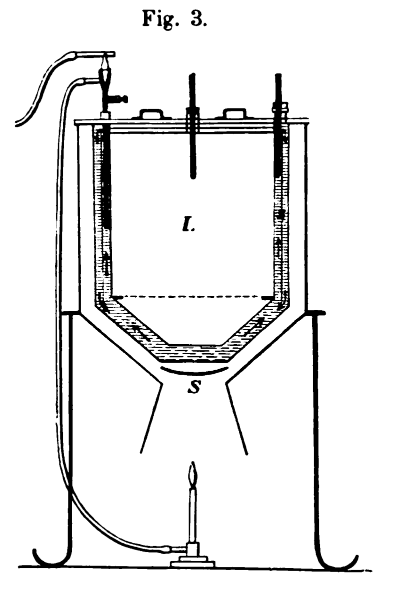
Si l'on met plusieurs bains-marie en communication avec la même bouteille de Mariotte, il faut que chacun d'eux, pendant qu'on le règle, soit isolé par une pince à ressort de cette bouteille et des autres bains-marie, comme autrement il passerait de l'eau d'un bain-marie dans un autre par suite du changement de niveau résultant du réglage, ce qui troublerait ce dernier ainsi que la température des autres bains-marie. Il va sans dire que le niveau de l'eau dans le bain-marie doit, après le réglage, être celui qui est maintenu par la bouteille de Mariotte. Si un objet doit être introduit dans le bain-marie, on oura soin de le chauffer au préalable à une température voisine de celle du bain et d'enlever l'eau déplacée pour que le niveau du bain reste invariable. Réciproquement, si un objet plongé dans le bain-marie doit en être retiré, on isolera provisoirement ce dernier de la bouteille de Mariotte, et ne le remettra en communication avec elle qu'après y avoir ajouté de l'eau à la même température, jusqu'à ce que le niveau maintenu par la bouteille de Mariotte soit rétabli. Lorsqu'on opère comme il vient d'être dit, il ne survient aucun trouble dans la marche du thermostat. Plus celui-ci est grand, moins il est nécessaire d'observer toutes ces précautions et plus il est facile de régler la flamme.

Je n'ai pas eu l'occasion de rechercher si le régulateur de pression en communication avec le thermo-régulateur peut, par un réglage exact, maintenir la température tout aussi constante lorsque celle-ci dépasse 50 ^{0} C. environ, mais il n'y a aucune raison d'en douter si l'on emploie une isolation suffisante.

Je n'ai pas non plus examiné comment les choses se passent dans un bain d'air. Il est certain que l'introduction de nouveaux objets, toutes choses égales d'ailleurs, en troublera plus la température que celle d'un bain-marie. La température environnante exercera également une plus grande influence, de sorte qu'il sera certainement toujours nécessaire de recourir à l'isolation. Une forme pratique d'un pareil bain d'air, forme qui n'est qu'une modification du thermostat de M. Horstmann (Annalen der Oenologie, Bd. III, p. 4). est représentée dans ses parties essentielles Fig. 3. *L* est la masse d'air dont la température doit être maintenue constante; elle est entourrée en bas et sur les côtés d'un matelas d'eau. La forme qu'a celui-ci à sa partie inférieure a pour but de faciliter la circulation de l'eau, que les écrans *s* forcent à suivre la direction indiquée par les flèches, ce qui

permet à la couche d'eau extérieure d'agir en même temps comme isolant. L'isolation se fait du reste seulement à l'aide de l'air. Pour que l'eau puisse circuler facilement, le diamètre de la couche d'eau ne doit pas être trop petit; une épaisseur de c. 4 centim. remplira bien le but. Il convient de prendre un thermostat cylindrique afin que les parois puissent mieux résister à la pression de l'eau. Les fonds doivent être reliés entre eux par des cornières de tôle, et il est bon d'en mettre aussi entre les parois cylindriques, mais de manière à gêner aussi peu que possible la circulation de l'eau. La choue d'eatu extérieure agissant comme isolan, il suffit d'avoir dans le bas et sur les côtés un matelas d'air de c. 2$^{cm.}$ d'épaisseur. Par contre, il convient d'employer dans le couvercle 2—3 couches d'air, chacune de $^1/_2$$^{cm.}$ — 1$^{cm.}$ d'épaisseur. L'écran *S* est en tôle assez épaisse, et sert seulement à protéger le fond contre l'action directe de la flamme. La tôle plombée et peinte au minium pour mieux résister à l'action nuisible des produits de la combustion du gaz, constitue pour un pareil bain d'air une matière première à la fois pratique et bon marché. Le laboratoire de Carlsberg possède un grand exemplaire d'un bain d'air de ce genre, qui, avec un régulateur ordinaire de Reichert, maintient la température très constante.

Fig. 3.



Au lieu des tubes en *T* compliqués représentés Fig. 2, on peut, cela va sans dire, employer des tubes en *T* ordinaires réunis avec des tubes en caoutchouc. L'appareil peut ainsi être construit avec ce qu'on trouve dans chaque laboratoire.

Le défaut que présente le régulateur de pression, à savoir qu'il doit diminuer la pression pour pouvoir la régler, est commun à tous les appareils de ce genre jusqu'ici connus. Mais si les ouvertures dés brûleurs sont seulemeat assez grandes, on peut en général travailler tout aussi bien avec du gaz à faible qu'à forte pression.

Un autre défaut, c'est que le réglage du régulateur de pression doit varier suivant la grandeur de l'ouverture du brûleur. C'est pourquoi, s'il est déjà en communication avec un thermo-régulateur qui fonctionne, on ne peut le faire communiquer avec un second à moins de le régler de nouveau, ce qui se fait comme il a été dit plus haut (il n'y a toutefois rien à changer à la soupape), en choisissant pour le réglage le moment où l'orifice d'arrivée du gaz dans le premier thermo-régulateur est à son maximum.

JUSQUÁ QUELLE LIMITE PEUT-ON, PAR LA MÉTHODE DE M. HANSEN, CONSTATER UNE INFECTION DE »LEVÛRE SAUVAGE« DANS UNE MASSE DE LEVÛRE BASSE DE SACCHAROMYCES CEREVISIÆ?

PAR

JUST CHR. HOLM ET S. V. POULSEN.

Les recherches de M. le Dr. Hansen sur les maladies de la bière causées par des levûres alcooliques (Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg II Vol. 2 Liv., 1883, p. 52, et Zeitschrift für das ges. Brauwesen, München, 1884, p 273) montrent combien grande est l'influence qu'une infection de »levûre sauvage« peut avoir.

Il est donc de la plus grande importance de pouvoir constater la présence d'un pareil mélange, et, pour y arriver, la formation des ascospores chez les cellules de levûre est, pour le moment. le seul moyen analytique dont on dispose.

En nous référant au mémoire de M. Hansen (Résumé etc. II Vol. 2e Liv. p. 13 et suiv.), nous rappellerons seulement ici que c'est en partie l'époque différente où les diverses espèces développent leurs ascospores à une certaine température, et en partie les températures maximum et minimum applicables à chaque espèce, dont dépend l'emploi analytique de la production des ascospores (voir aussi le mémoire du même auteur I Vol. 4 Liv. 1882, p. 204—206, Note [2])). M. Hansen nous a en outre, tant à nous qu'à ses autres élèves au laboratoire, souvent donné des renseignements verbaux sur cette question, et c'est principalement sur eux que nous avons établi le plan des expériences qui suivent.

La sensibilité, dans toute méthode analytique, est un point toujours très important et souvent décisif; il s'agissait donc, dans ce cas, de déterminer la quantité minimum de »levûre sauvage«, dont on peut constater la présence dans la levûre basse de brasseries.

Les cultures pour faire développer des ascospores par les cellules de levûre ont été practiquées à l'aide de blocs de plâtre et avec des cellules jeunes et vigoureuses (voir le mémoire cité, II Vol. 2 Liv. p. 30).

On a employé dans ces essais comme levûre principale de la levûre basse du S. cerevisiæ (la levûre pure nº 1 de la brasserie), l'espèce sur laquelle est basée l'exploitation de la brasserie de vieux Carlsberg et d'un grand nombre d'autres, notamment dans les pays scandinaves, et, comme levûres de mélange, les levûres sauvages suivantes:

S. Pastorianus I.
S. Pastorianus III.
S. ellipsoïdeus II.

qui sont décrites dans le dernier mémoire cité p. 31 et suiv.

On s'est exclusivement servi de cultures pures de ces 4 formes. Le choix des levûres sauvages sus-nommées a été déterminé par la raison que, d'après les recherches de M. Hansen, elles provoquent des maladies dans la bière (trouble de la levûre, goût amer), et comme elles sont les seules chez qui ce fait ait été constaté, il n'y avait aucun motif pour en essayer d'autres. A 25 ⁰ C., elles produisent des ascospores déjà au bout de 25—28 heures, tandis que la levûre nº 1 de la brasserie, à la même température, n'en développe qu'un très petit nombre au bout de 5 jours, ou, le plus souvent, pas du tout. La différence est donc considérable. — Si toutes les cellules, dans une culture sur le plâtre, donnaient des ascospores, nos recherches seraient superflues, tout étant alors déjà indiqué à l'avance dans les mémoires de M. Hansen; mais ce n'est pas le cas, car il y en a toujours un certain nombre qui, dans ces conditions, ne développent pas d'ascospores; à combien s'élève ce nombre, c'est ce qu'on n'a pas encore cherché à déterminer.

La levûre a été cultivée dans des ballons Pasteur (de $^1/_2$ à $^1/_5$ de litre) à demi remplis de moût de bière houblonné stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball.); les grands ballons ont donné 5 c. c. env., et les petits, 2—3 c. c. env. de levûre assez épaisse.

Après avoir obtenu, par une culture de 24 heures à 25 ⁰ C. dans ces ballons Pasteur, des cellules jeunes et vigoureuses, on décantait presque toute la bière et secouait dans le reste la levûre de dépôt. Celle-ci était ensuite versée dans des bocaux stérilisés. On avait soin que la levûre provenant des différentes espèces eût, autant que possible, la même concentration. A l'aide de pipettes stérilisées, qui à leur extrémité supérieure, étaient munies d'un bouchon en ouate stérilisé, on mesurait ensuite la quantité jugée convenable. S'agissait-il, par ex,, d'un mélange contenant 5 $^0/_0$ de »levûre sauvage«, on prenait 10 c. c. de S. cerevisiæ et $^1/_2$ c. c. de »levûre sauvage«, et, pour un mélange avec 1 $^0/_0$ de cette levûre, 10 c. c. de S. cerevisiæ et $^1/_{10}$ de c. c. »levûre sauvage« soit 2 gouttes avec la pipette dont nous nous servions, etc. Les mélanges étaient versés dans un bocal stérilisé, et on les remuait avec soin avant de les semer sur les blocs de plâtre.

Il serait trop long et en même temps inutile de mentionner tous les essais auxquels nous nous sommes livrés, comme nous avons toujours opéré de la même manière, en ne faisant varier que la proportion de la levûre sauvage. Nous avons commencé avec un mélange de 10 $^0/_0$ de

levûre sauvage. De chaque mélange nous faisions 2 cultures sur des blocs de plâtre (6 en tout), après quoi pour plus de sûreté, nous semions sur 2 autres blocs un mélange de S. cerevisiæ et des 3 espèces de levûres sauvages. Enfin, comme contrôle, nous procédions en même temps sur des blocs de plâtre à des cultures des 4 espèces en question, chacune pour soi. Les 12 blocs étaient placés dans un thermostat à 25 ° C. et examinés au bout de 40 heures. Le résultat a toujours été que les blocs ensemencés de levûres sauvages pures renfermaient un très grand nombre d'ascospores, que les 8 blocs avec un mélange à 10 % en contenaient encore beaucoup, mais qu'il n'y en avait pas un seul sur les blocs où l'on avait semé des cultures pures de S. cerevisiæ. Dans des essais, comme dans tous les autres, le contrôle ci-dessus mentionné a toujours pleinement confirmé que les ascospores observés ne provenaient pas du S. cerevisiæ, mais des levûres sauvages.

Nous avons entrepris une série d'essais semblables avec des mélanges à 5 %, 3 %, 2 % et 1 %, où, dans les deux derniers cas, la levûre sauvage ne formait donc respectivement que $^1/_{50}$ et $^1/_{100}$ de la masse, et, au bout de 48 h. env., on pouvait sans difficulté constater la présence de cellules avec des ascospores. Nous nous sommes efforcés de rendre la concentration des différentes espèces aussi égale que possible; cependant la levûre provenant des espèces sauvages était souvent plus fluide que celle produite par le S. cerevisiæ, ce qui veut dire que le mélange a plutôt été au-dessous qu'au-dessus de celui qui est indiqué dans chaque cas; la méthode est donc sans doute encore plus sensible qu'il n'est dit ici.

Il a en outre été fait un essai (8 blocs de plâtre) avec un mélange à $^1/_2$ %, où par conséquent $^1/_{200}$ de la masse était de la levûre sauvage, et nous avons également, au bout de 44 heures, pu trouver quelques cellules avec des ascospores dans toutes les cultures renfermant des levûres sauvages; seulement, pour deux d'entre celles, il a été nécessaire de prendre plusieurs échantillons avant d'y découvrir des cellules à ascospores. L'essai a été refait avec le même résultat.

On pourrait naturellement obtenir un résultat analogue avec un mélange encore plus faible, et trouver une ou un tout petit nombre de cellules à ascospores, en prenant beaucoup d'échantillons de chaque culture et en examinant chacun d'eux avec soin; mais comme cela n'a aucune importance practique, nous n'avons pas poussé nos essais plus loin.

Ce doit aussi être considéré comme un résultat satisfaisant pour l'emploi pratique de la méthode d'avoir pu constater la présence d'un mélange de levûre sauvage aussi faible que $^1/_{200}$ de la masse totale. Il nous suffira, à cet égard, de nous référer au mémoire cité plus haut de M. Hansen sur les maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliqnes, où il est dit que, lorsque le S Pastorianus III ou le S ellipsoïdeus II ne constitue que $^1/_{41}$ de la levûre de la mise en levain, et que la fermentation et l'enmagasinage de la bière se font d'après les procédés généralement en usage dans les bonnes brasseries, la maladie qu'ils occasionnent (trouble de la levûre) par leur présence en plus grande quantité ne se déclare pas. Pour les espèces dont il s'agit, il est donc plus que suffisant de pouvoir indiquer un mélange à $^1/_{200}$.

La rapidité avec laquelle on peut obtenir le résultat n'est pas non plus sans intérêt pur la pratique de l'analyse. Les essais faits dans ce but avec des mélanges à 2 et à 1 %, ont montré qu'on peut déjà après 30 heures trouver des cellules isolées avec des ascospores, mais que ce n'est cependant qu'au bout de 40 heures qu'elles apparaissent en assez grande quantité. Il vaudra donc mieux attendre jusque là pour faire l'analyse.

La formation des ascospores peut aussi, cela va sans dire, être employée pour reconnaître si des levûres autres que celle dont nous nous sommes occupés dans ce travail sont infectées ou non par des levûres de maladie. Mais on ne pourra pas, dans tous les cas, opérer à la même température, et il faudra par conséquent entreprendre une nouvelle série d'expériences avant de pouvoir donner, dans tous ses détails, la règle à suivre. Nous nous réservons de traiter cette question dans une communication ultérieure.

RECHERCHES SUR LA PHYSIOLOGIE ET LA MORPHOLOGIE DES FERMENTS ALCOOLIQUES.

PAR

EMIL CHR. HANSEN.

V.

MÉTHODES POUR OBTENIR DES CULTURES PURES DE SACCHAROMYCES ET DE MIKROORGANISMES ANALOGUES.

Dans la Revue du laboratoire pour 1882 et 1883, j'ai publiés quelques renseignements sur les méthodes que j'avais successivement imaginées dans le cours des dernières années pour obtenir avec certitude des cultures pures de Saccharomyces. La manière d'opérer n'y étant indiquée qu'à grands traits, j'ai été, de plusieurs côtés et à différentes reprises, invité à donner un exposé circonstancié de tous les détails, un guide pour ceux auxquels ce genre de travaux n'est pas encore familier, et qui leur permit de les exécuter eux-mêmes avec assurance et avec assez de facilité[1]). Si je ne satisfais qu'aujord'hui à cette demande, c'est parce que d'autres travaux plus importants ont absorbé jusqu'ici tout mon temps, et que j'ai voulu, au préalable, vérifier tel ou tel point pour pouvoir offrir un guide aussi bon et aussi complet que possible.

D'après la nature du sujet, un pareil guide doit renfermer la description d'une foule de petits détails, mais comme c'est justement de ces détails que se compose l'ensemale, ils méritent toute attention.

---

[1]) Je reçois aussi assez souvent des demandes de renseignements sur les appareils employés au laboratoire de Carlsberg pour mes expériences sur les fermentations. Ces appareils, en tant qu'ils sont en verre, se trouvent en général chez M. Jacob, 30 Gothersgade, à Copenhague.



La rapidité avec laquelle on peut obtenir le résultat n'est pas non plus sans intérêt pur la pratique de l'analyse. Les essais faits dans ce but avec des mélanges à 2 et à 1 %, ont montré qu'on peut déjà après 30 heures trouver des cellules isolées avec des ascospores, mais que ce n'est cependant qu'au bout de 40 heures qu'elles apparaissent en assez grande quantité. Il vaudra donc mieux attendre jusque là pour faire l'analyse.

La formation des ascospores peut aussi, cela va sans dire, être employée pour reconnaître si des levûres autres que celle dont nous nous sommes occupés dans ce travail sont infectées ou non par des levûres de maladie. Mais on ne pourra pas, dans tous les cas, opérer à la même température, et il faudra par conséquent entreprendre une nouvelle série d'expériences avant de pouvoir donner, dans tous ses détails, la règle à suivre. Nous nous réservons de traiter cette question dans une communication ultérieure.

RECHERCHES SUR LA PHYSIOLOGIE ET LA MORPHOLOGIE DES FERMENTS ALCOOLIQUES.

PAR

EMIL CHR. HANSEN.

V.

MÉTHODES POUR OBTENIR DES CULTURES PURES DE SACCHAROMYCES ET DE MIKROORGANISMES ANALOGUES.

Dans la Revue du laboratoire pour 1882 et 1883, j'ai publiés quelques renseignements sur les méthodes que j'avais successivement imaginées dans le cours des dernières années pour obtenir avec certitude des cultures pures de Saccharomyces. La manière d'opérer n'y étant indiquée qu'à grands traits, j'ai été, de plusieurs côtés et à différentes reprises, invité à donner un exposé circonstancié de tous les détails, un guide pour ceux auxquels ce genre de travaux n'est pas encore familier, et qui leur permit de les exécuter eux-mêmes avec assurance et avec assez de facilité[1]). Si je ne satisfais qu'aujord'hui à cette demande, c'est parce que d'autres travaux plus importants ont absorbé jusqu'ici tout mon temps, et que j'ai voulu, au préalable, vérifier tel ou tel point pour pouvoir offrir un guide aussi bon et aussi complet que possible.

D'après la nature du sujet, un pareil guide doit renfermer la description d'une foule de petits détails, mais comme c'est justement de ces détails que se compose l'ensemale, ils méritent toute attention.

---

[1]) Je reçois aussi assez souvent des demandes de renseignements sur les appareils employés au laboratoire de Carlsberg pour mes expériences sur les fermentations. Ces appareils, en tant qu'ils sont en verre, se trouvent en général chez M. Jacob, 30 Gothersgade, à Copenhague.



Les communications qui suivent constituent une partie des cours de physiologie des fermentations que j'ai faits dans les dernières années au laboratoire pour des naturalistes étrangers.

En établissant une culture pure de tel ou tel microorganisme, nous nous proposons en général ou d'obtenir des renseignements sur son évolution et sa morphologie, ou de faire des expériences physiologiques. Dans le premier cas, ce sont des variations de croissance et de forme que nous désirons observer, recherche qui doit naturellement se faire à la table du microscope. Par l'observation directe. nous suivons, par ex.. la germination d'un spore de champignon et son développement ultérieur jusqu'à ce que la plante en provient ait elle-même produit des spores. Il est digne de remarque qu'il n'est pas besoin pour cela d'une culture en masse — un cherche même à l'éviter — et qu'une culture absolument pure n'est pas non plus nécessaire. Peu importe que quelques organismes étrangers soient présents, pourvu qu'ils ne gènent pas d'une manière sensible celui dont on veut étudier le développement, et que leur aspect diffère assez de celui de ce dernier, pour qu'aucune confusion ne puisse avoir lieu.

Il en est tout autrement de l'expérimentation physiologique; dans la plupart des cas, elle se fait loin de la table du microscope, en grande partie sans le contrôle de cet instrument, mais exige par cela seul des cultures absolument pures, le plus souvent conjointement avec une culture en masse. C'est seulement de cette espèce de cultures pures que nous allons nous occuper.

La voie par laquelle on pourra toujours obtenir une culture pure, quelles que soient les propriétés physiologiques et morphologiques du microorganisme à examiner, se prèsente d'elle-même; c'est l'ensemencement d'une seule cellule dans un liquide nourricier stérilisé à l'avance d'une manière telle, que des organismes étrangers ne puissent s'y glisser pendant la culture. Autant l'idée est simple, autant étaient grandes les difficultés qu'il a fallu surmonter avant que le problème pût ètre en quelque sorte regardé comme rèsolu. Plusieurs savants se sont de nos jours occupés de cette question, en s'appuyant les uns sur les autres. Dans les dernières années, on s'est surtout efforcé de rendre le travail plus facile et plus rapide, quelquefois aux dépens de la certitude.

Mes premières cultures pures ont été faites à l'aide d'une méthode de dilution. Les cellules étaient en effet additionnées d'un volume d'eau stérilisée d'une grandeur telle que 2 c. c. du mélange, lorsque les cellules

y étaient uniformément réparties, ne devaient renfermer qu'une cellule. Si l'on fait une série d'ensemencements, chacun de 1 c. c., il n'y en aura donc que de deux l'un qui devrait donner une cellule. C'est ainsi, par ex., que MM. Nägeli et Fitz ont préparé leurs cultures pures de bactéries. Mais la théorie montre déjà qu'on ne peut par ce moyen arriver à une complète certitude. La question est donc de savoir comment il sera possible de distinguer les ballons qui renferment plusieurs cellules de ceux qui n'en renferment qu'une. J'y suis parvenu à l'aide d'un caractère important fourni par le nombre des taches de levûre qui se forment dans les ballons. En effet si, dans un ballon renfermant un liquide nourricier, on introduit *n* cellules et qu'on le secoue pour répartir les cellules, celles-ci, le liquide une fois en repos, se logent au fond du ballon et y forment *n* taches, qui, après avoir atteint une certaine grandeur, peuvent facilement être observées et comptées à l'œil nu. Les ballons dans lesquels il ne s'est développé qu'une seule tache de levûre n'ont aussi reçu chacun qu'une seule cellule vivante. (Voir pour l'explication détaillée de la méthode mon mémoire de 1883, p. 25).

Telle était la nouvelle contribution que mes études avaient apportée sur ce point au développement de la méthode. On obtient par là une certitude plus grande qu'auparavant. Quant aux manipulations, il n'y a rien d'essentiel à ajouter à mes précédentes communications. (Voir le chapitre »Méthodes«, p. 23—26).

Un avantage important de cette méthode, c'est que. du moment qu'on a vraiment réussi à obtenir l'ensemencement d'une seule cellule dans un ballon renfermant un liquide nourricier, on a en même temps toutes les conditions pour faire une culture en grand sans avoir à craindre aucune infection venant du dehors. Mais la méthode est coûteuse, car elle exige un grand nombre de ballons; elle demande en outre plus de travail, plus d'expérience et plus de soin que n'en réclame la méthode décrite plus loin. Aussi n'est-elle employée maintenant que dans quelques cas. A-t-on affaire, par ex., avec un mélange de différentes espèces de levûres. dont quelques-unes sont vigoureuses et d'autres affaiblies, et veut-on précisément isoler ces dernières, il n'y aura en général pas d'autre moyen que d'y avoir de nouveau recours. De pareilles cellules ne se développent pas en effet ordinairement dans la gélatine nourricière (le substratum employé dans la méthode suivante), mais au contraire avec plus grande facilité dans des liquides. J'ai eu souvent l'occasion d'en faire l'expérience notamment dans les analyses de microorganismes vivant dans la terre.

Comme on sait, les cultures pures de bactéries, dans ces dernières années, se font en général d'après la méthode suivante de M. Koch; Quelques-unes des cellules qu'il s'agit de cultiver à l'état de pureté sont mises dans de la gélatine nourricière liquide, après quoi on secoue le tout pour les y répartir aussi également que possible. Le mélange est

versé sur une plaque de verre stérilisée, qui est ensuite placée dans une enceinte humide à une température convenable; les cellules qui sont emprisonnées dans la gélatine figée développent successivement des végétations. Mais il est évident qu'on n'a pas la certitude que chacune des végétations développées dans la gélatine n'est formée que par une seule cellule. Les différentes espèces de bactéries peuvent donner, il est vrai, des taches d'un aspect différent, ce qui facilite beaucoup l'emploi de la méthode. Mais cette ressource fait défaut chez les Saccharomyces; aussi faut-il procéder d'une autre manière pour en obtenir des cultures pures. Dans ce but, au lieu de verser la culture de gélatine sur une plaque ordinaire de verre, je la verse sur la face inférieure d'une lame de verre couvre-objet qui est ensuite fixée à une chambre humide (de Böttcher), et je m'assure à l'aide du microscope si les taches de végétation que j'emploie plus tard pour des cultures en grand proviennent réellement chacune d'une seule cellule.

C'est cette modification de la méthode de M. Koch qui est maintenant le plus fréquemment employée au laboratoire de Carlsberg, comme aussi dans les établissements du Danemark et de l'étranger qui, sur le modèle de Carlsberg, fabriquent pour l'industrie de la levûre pure provenant de races choisies, et s'occupent de l'étude des levûres. Pour la limite de la méthode, etc. voir mon mémoire de 1883, p. 26—29. Dans ce qui suit, on trouvera l'exposé détaillé que j'avais promis de tous les travaux que s'y rapportent, ainsi que la description des appareils employés.

1. Préparatifs: Comme pour les autres expériences de ce genre, il faut avoir soin, autant que possible, que l'air ne renferme pas de poussières ni, par conséquent, de germes; si la chose est faisable, on fermera à clef, quelque temps à l'avance, la pièce où doit se faire l'expérience, afin que l'air puisse s'y mettre en repos. On peut se procurer une petite chambre de travail où l'air est presque complètement dépouillé de germes, à l'aide d'une caisse qui est juste assez grande pour qu'on puisse y introduire les bras et les remuer avec une liberté suffisante; il faut en outre que la caisse soit bien éclairée du dehors, et qu'elle ait une porte glissant verticalement dans des coulisses et pouvant être maintenue à la hauteur voulue. On en lave partout l'intérieur avec de l'eau stérilisée, la laisse pendant quelque temps fermée dans la pièce où elle doit être employée et ouvre alors la porte avec précaution. L'exemplaire que possède le laboratoire a intérieurement une hauteur de 56, une largeur de 63 et une profondeur de 50 cm. La porte, de même que le plafond et les trois faces, sont de grandes glaces encastrées dans de solides cadres en bois, tandis que le fond est complètement en bois. La porte une fois abaissée, peut être fermée à clef. Dans plusieurs cas, il sera peut-être plus commode de se servir d'une caisse de dimensions plus petites. Mais les descriptions qui suivent supposent toujours qu'on opère dans une pièce ordinaire sans le secours de cet appareil.

On se sert des instruments et des appareils suivants: une paire de pinces, une dixaine de minces baguettes de verre, 2—3 chambres humides (de Böttcher) avec des anneaux de 30 millim. de diamètre, quelques

lames de verre couvre-objet appropriées, 2—3 morceaux de fil de platine de $1^1/_2$ cm. de long sur $^1/_2$ millim. d'épaisseur et quelques plaquet et cloches de verre. La Fig. 1 est, sur une échelle réduite, une coupe verticale de la chambre humide ci-dessus mentionnée; *a* est la lame de verre couvre-objet, sur la face inférieure *b* de laquelle se fait la culture; *c* est l'anneau de la chambre et *d*, une couche d'eau répandue sur le fond pour empêcher l'évaporation. Tous ces objets doivent être flambés à l'aide d'une flamme de gaz ou d'esprit de vin, ou mieux être enveloppés dans plusieurs couches de papier à filtrer et puis stérilisés dans un chauffoir (à 150° C. pendant 2 heures). Avant de s'en servir, il faut naturellement les laisser suffisamment refroidir. Le bord libre de l'anneau des chambres humides est enduit de vaseline, et on verse sur le fond de celles-ci un peu d'eau stérilisée.[1]) Les fils de platine sont placés sur une petite plaque de verre stérilisée de manière à pouvoir être facilement saisis avec une des pinces, et recouverts d'une cloche en verre; on en fait autant pour les lames de verre couvre-objet et les chambres.

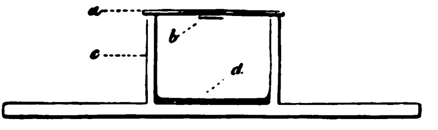


Fig. 1.

Un bain-marie chauffé à 30—35° C. est tenu prêt ainsi qu'un support pour y maintenir les ballons Chamberland mentionnés ci-après. Il en faut deux (chacun de 30 c. c. env.) remplis à moitié d'eau stérilisée, et deux autres remplis à moitié de gélatine nourricière; on en flambe la surface et les laisse sous une cloche jusqu'à ce qu'ils doivent être employés. Comme le montre la Fig. 2, ils sont formés avec un capuchon à recouvrement à l'émeri et dont le tube mince est rempli de coton stérilisé. Quant à la gélatine, on se sert d'une solution à 5 % dans du moût clair houblonné (14 % Ball. env.). (Cette solution s'est aussi montrée d'un bon emploi dans les cas où l'on fait des ensemencements de ferments alcooliques qui ne peuvent pas faire fermenter la maltose, tels que le Sacch. apiculatus, le Sacch. exiguus et quelques espèces qui, pour la forme, ressemblent au Sacch. exiguus, mais ne développent pas d'endospores). Une proportion de gélatine inférieure à 5 % n'est pas à conseiller; qu'on la prenne plutôt plus grande. Au lieu de moût, on peut aussi employer un liquide nourricier consistant en une solution de dextrose à 10 %, à laquelle on ajoute de l'eau de levûre jusqu'à ce que le liquide prenne une couleur jaune distincte. La gélatine


Fig. 2.

---

[1]) Pour fixer les anneaüx à la lame porte-objet, je puis recommander une solution de gélatine dans l'acide acétique cristallisable (Acetum conc. pur.) à laquelle, avant de s'en servir, on ajoute du chromate jaune de potasse (ou bichromate de potasse) en poudre fine même que le colle (Glaslim) de M. Jensen, 20 Frederiksborggade à Copenhague.

dont il est parlé dans ce qui suit est toujours celle qui est préparée avec du moût de bière.

2. **Production de la culture pure:** Les ballons qui renferment la gélatine nourricière sont chauffés avec précaution jusqu'à ce que leur contenu devienne liquide, et portés ensuite au bain-marie. Comme point de départ pour la culture pure, il convient de prendre une végétation de cellules jeunes et vigoureuses. On en délaye un petit nombre dans un des ballons Chamberland à eau stérilisée jusqu'à ce que celle-ci devienne légèrement troublé, secoue ensuite le ballon pour y répartir les cellules aussi également que possible et, cela fait, y puise avec une baguette en verre quelques gouttes qui sont examinées au microscope. Pour cet examen microscopique comme pour ceux dont il sera question plus loin, je me sers d'un grossissement aussi faible que possible. c'est à-dire d'un objectif et d'un oculaire me permettant tout juste de distinguer clairement les cellules d'avec les autres petits corps qui les accompagnent. On obtient par là le champ de vision le plus grand possible et opère en même temps plus vite. Emploie-t-on un microscope de Zeiss, à Jéna, je recommende l'oculaire nº 1 et l'objectif DD, Le but de ce premier examen microscopique est d'apprécier la richesse du mélange en cellules. Après avoir de nouveau secoué suffisamment ce dernier, on y trempe un des fils de platine et le reporte rapidement dans un des ballons renfermant la gélatine liquide. Tant dans cet essai pour obtenir une égale répartition des cellules que dans les suivants. il faut éviter de former de l'écume. La température de la gélatine ne doit pas dépasser 35 ^{0} C.; il suffit qu'elle se maintienne liquide. L'examen microscopique a-t-il montré que le mélange aqueux est riche en cellules, on n'y trempe le fil de platine qu'à une petite profondeur, 2 millim., par ex.; dans le cas contraire, on l'enfonce davantage.

Après avoir secoué la gélatine infectée pour obtenir une égale répartition des cellules, on en prend quelques gouttes avec une baguette en verre pour les examiner au microscope. Pour plus de sûreté, il faut opérer sur deux échantillons; s'ils donnent chacun le même résultat, il y a lieu de supposer que les cellules sont également réparties et qu'on a obtenu des échantillons moyens. Il s'agit alors de déterminer si la gélatine a reçu ou non un nombre convenable de cellules: commet-on à cet égard une erreur grave, tout le travail ultérieur est fait en pure perte. Pour que la répartition des cellules dans la gélatine soit telle qu'on puisse avec certitude obtenir des cultures pures, il faut que les taches de végétation qui se forment plus tard aient une place suffisante, de manières qu'elles ne puissent se fusionner ou du moins que cela n'arrive pas souvent. C'est pourquoi on cherche par ce contrôle à être fixé sur la répartition des cellules et avant tout sur la distance qui les sépare. Si l'on se sert pour cette épreuve de préparations microscopiques ordinaires, il ne faut pas oublier que les cellules, dans la gélatine qui doit servir à l'essai, sont en réalité beaucoup plus rapprochées les unes des autres que dans les gouttes fortement aplaties de ces préparations. Aussi une grande habitude est-elle nécessaire pour pouvoir tirer de là une conclusion suffisamment sûre. On arrive au contraire à ce résultat en prenant des gouttes de la nature (grandeur, forme, etc.) que nous emploierons plus tard. Ces gouttes sont portées sur une lame de verre

porte-objet ordinaire, ou mieux sur un porte-objet où sont gravés des carrés, et alors sur les traits gravés eux-mêmes. Les carrés donnent en effet des points de repère pour l'examen microscopique, qui devient par là plus facile et plus sûre. On n'emploie pas de lame de verre couvre-objet, et peut bien procéder tout de suite à cet examen pendant que la gélatine est encore fluide.

C'est un fait connu que des cellules qui, dans des liquides nourriciers peuvent donner des signes de vie, souvent ne le font pas dans la gélatine. De là cette conséquence, que d'ordinaire toutes les cellules semées dans la gélatine ne produisent pas de taches de végétation; néanmoins, les commençants en général, trouveront que le nombre de ces taches dépasse celui des cellules qu'ils ont observées au commencement de l'essai, et cela parce que plusieurs de ces dernières ont échappé à leur attention. La faute qu'en somme on commet le plus souvent, c'est de semer un trop grand nombre de cellules.

Si l'espèce à examimer est prédominante dans la levûre prise comme point de départ, il vaut mieux ne semer dans la gélatine qu'un petit nombre de cellules; dans le cas contraire, il faut opérer avec un nombre de cellules aussi grand que le comporte la préparation d'une culture pure. On procèdera de même s'il s'agit d'obtenir en même temps, dans un essai, des cultures de plusieurs espèces originairement mêlées ensemble; dans ce cas, il faudra naturellement redoubler d'attention, car le danger qu'une tache de végétation puisse être formée à la fois par plusieurs espèces, est plus grand que lorsque l'espèce qu'on veut étudier prédomine dès l'origine dans la levûre sur laquelle on opère.

Le contrôle montre-t-il qu'on a semé trop peu ou trop de cellules, il faut, dans le premier cas, ajouter plus de cellules et, dans le second, plus de gélatine nourricière, le tout après un calcul préalable. Trouve-t-on, par ex., que le mélange renferme deux fois plus de cellules que le nombre voulu, on obtiendra la dilution convenable en y ajoutant une portion de gélatine aussi grande que celle qui s'y trouve déjà, et inversement, veut-on doubler le nombre des cellules, il suffira de procéder une seconde fois à une infection semblable à la première, supposé, bien entendu, qu'on ait rémarqué à quelle profondeur le fil de platine a été enfoncé dans le mélange d'eau et de cellules lors de la première infection.

Ce point important une fois éclairci, on porte rapidement une portion convenable de la gélatine nourricière infectée sur les lames de verre couvre-objet, qui sont assitôt recouvertes chacune d'une petite cloche. Si la table sur laquelle elles reposent est quelque peu horizontale, il n'est pas besoin d'autre orientement. Il faut, cela va sans dire, maintenir la gélatine toujours fluide dans le bain-marie, et y répartir également les cellules en la secouant. Comme il a été dit plus haut, on doit éviter toute formation d'écume. Après que les lames couvre-objet ont reçu leur portion de gélatine, on vide le ballon qui le renferme en n'en laissant au fond qu'one couche mince. Cette opération a un double but: en exposant le ballon avec son reste de gélatine à la même température que les lames couvre-objet, on a un moyen facile et sûr de savoir quand

la gélatine de ces derniers est figée, car lorsqu'elle l'est dans le ballon, elle le sera aussi sur les lames. Enfin ce reste de gélatine doit servir comme une espèce de réserve, au cas que les cultures dans les chambres viennent à échouer, ce qui pourtant n'arrive pas facilement si l'on opère avec soin. On se rappellera que les taches développées dans le ballon ne peuvent pas avec certitude être prises pour des cultures pures. A la température ordinaire d'un appartement, la gélatine dont il est toujours question ici (5 % de gélatine dans du moût clair houblonné à 14 % Ball. env.) met ordinairement à peine un quart d'heure à se figer; pour aller plus vite, on peut refroidir avec de la glace. Le motif pour lequel la gélatine fluides est mise de suite sur une lame couvre-objet et, seulement après qu'elle s'est figée, dans une position inclinée, c'est qu'ainsi on peut plus facilement et sans crainte de troubler la culture, fixer la lame au bord enduit de vaseline de l'anneau de la chambre humide; il est de plus à supposer que, de cette manière, la goutte sera moins bombée; mais on ne remarque en tout cas aucune différence bien prononcée. Il en est de même des gouttes qui se figent lentement à la température de la pièce et rapidement à l'aide de la glace.

Dès que la gélatine est figée, on fixe la lame couvre-objet à l'anneau ci-dessus mentionné de manière que la culture soit tournée en bas. Par une pression exercée avec précaution sur les points du verre qui touchent l'anneau, on a soin de rendre la liaison complète, de façon que la chambre soit entièrement isolée du milieu environnant. Pour empêcher que la lame couvre-objet ne puisse glisser si elle vient à être touchée, il est bon d'y fondre en deux ou trois points un peu de cire à cacheter.

3. **Contrôle sur le porte-objet du microscope:** Les chambres une fois en ordre sont examinées à l'aide du faible grossissement mentionné plus haut; c'est seulement dans des cas douteux qu'il faut recourir à des objectifs plus forts. La première chose à faire est d'observer si les cellules sont disposées de manière que des taches isolées puissent se développer de chacune d'elles; dans ce cas, il n'est plus besoin de contrôle. Mais il arrive souvent que certaines parties de la préparation n'offrent pas une pareille certitude; il faut alors les délimiter. Cela peut se faire à l'aide de marques tracées sur la lame en question avec un pinceau fin et une couleur blanche à la gomme. Il n'est pas rare que les cellules soient réparties de façon qu'il devient nécessaire d'observer spécialement certaines d'entre elles et d'en suivre le développement. Pour ce contrôle, on peut faire des marques, par ex., des croix, à droite et à gauche, sur la platine du microscope, ainsi que des marques correspondantes sur le verre porte-objet de la chambre, de manière à pouvoir toujours retrouver l'image microscopique cherchée. C'est ce procédé que j'ai d'abord suivi; plus tard M. Will s'est servi de lames de verre couvre-objet, sur une face desquelles il avait gravé à l'acide fluorhydrique un grand nombre de lignes se coupant à angle droit et formant de petits carrés de 1 millim. de côté, dont les deux rangées extérieures contiguës étaient numérotées. Ces nombres et ces lignes fournissent d'excellents points de repère. M. Alfred Jörgensen m'a dit qu'il avait

toujours trouvé dans ces essais que le plus pratique était de placer les nombres chacun dans son carré, car non seulement ils servent à désigner certains carrés, mais, par les figures qu'ils forment, ils sont aussi d'un grand secours pour retrouver plus facilement la cellule dont on veut suivre le développement. On peut mettre la gélatine indifféremment sur l'une ou l'autre face, mais l'observation est sans doute rendue plus facile quand la culture est placée sur la face gravée. Dans ces derniers temps, nous avons aussi avec succès employé au laboratoire le marqueur [1]) Cet appareil se visse au tube au lieu de l'objectif, et, par le mouvement ordinaire à vis du microscope, est amené ensuite sur la lame couvre-objet, où, par un contact assez léger, il imprime un anneau coloré et délimite ainsi un point déterminé à l'avance. Le diamètre de l'anneau est de $1^1/_2$ millim.; s'il était plus petit, il serait encore d'une plus grande utilité dans des recherches de ce genre. On pourrait aussi. dans le même but, employer une table à microscope mobile avec des divisions. Dans tous les cas, il s'agit de s'assurer que les taches de végétation qui serviront plus tard pour les cultures en grand sont réellement des cultures absolument pures, c'est-à-dire provenant chacune d'une seule cellule. Le travail exécuté depuis le commencement de l'essai (préparatifs p. 95 etc.) jusqu'au point où nous en sommes arrivé prend environ 3 heures pour un expérimentateur un peu exercé.

Après s'être ainsi assuré des points de repère, on place les chambres et le ballon Chamberland avec son reste de gélatine dans un thermostat à 24—25 ⁰ C. A défaut de cet appareil, ils peuvent rester où ils sont à la température ordinaire d'un appartement, Si l'on travaille avec plusieurs chambres à la fois, il est pratique de les ranger dans un support spécial, où elles sont placées l'une au-dessus de l'autre sans se toucher. S'il y a un microscope de reste, on peut aussi visser une chambre à sa platine et mettre l'objectif au point de vision nette de la cellule dont on désire employer la végétation; il est alors très facile d'en suivre le développement pas à pas (voir mon mémoire, II Vol. 2 Liv., 1883, p, 28). Le même résultat s'obtient, quoique avec un peu plus de difficulté, en retirant de temps à autre les chambres et en les plaçant sur la platine d'après les marques. Dans tous les cas douteux, il ne faut pas manquer de recourir à un pareil contrôle. Il sera du reste en général facile et n'exigera pas de grands efforts si seulement on a opéré avec une dilution convenable et avec exactitude. Ce qui distingue cette manière de procéder, c'est qu'on n'abandonne rien au hasard, mais assure chacun de ces pas. C'est en outre un grand avantage que, sans troubler les végétations ni les exposer à une infection venant du dehors, on puisse les examiner à volonté non seulement avec de faibles grossissements, mais aussi avec de forts objectifs. Il devient aussi par là possible de faire des observations sur l'évolution, observations qui ont de l'importance pour la connaissance des espèces sur lesquelles on opère,

---

[1]) Klönne & Müller, Prinzenst.. 71, Berlin.

Dans les conditions ci-dessus décrites, il se développe des taches de végétations visibles à l'œil nu au bout de 2 ou 3 jours, suivant que les cultures ont été exposées à 24—25 ° C. ou à la température ordinaire d'un appartement. Cette règle s'applique à tous les Saccharomyces et à toutes les cellules ressemblant à des Saccharomyces, Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ, Torula de Pasteur, etc., qui ont jusqu'ici été étudiés au laboratoire. Chez les Saccharomyces et la plupart des formes que nous venons de nommer, les taches de végétations ont la forme et la grandeur de très petites têtes d'épingles et une couleur jaune gris clair; quelquefois elles ont l'aspect de la cire, la surface peut en être sèche ou un peu brillante; le bord vu sous un faible grossissement, en est assez nettement délimité ou velu. Toutes ces différences peuvent se montrer chez une seule et même espèce et dans la même culture, et varient suivant que les taches se sont développées dans une couche plus épaisse ou plus mince de gélatine.

Les taches du Mycoderma vini et du Mycoderma cerevisiæ, comme aussi de quelques espèces voisines, diffèrent assez des précédentes. Ces taches complètement développées sont en effet gris clair, à surface sèche et étendues comme des membranes, souvent creusées en forme de coupe. Tant qu'elles sont recouvertes par la gélatine, elles ressemblent aux taches des Saccharomyces, La couche de gélatine qui les recouvre est souvent si mince qu'il est très difficile de la découvrir, de sorte qu'on peut facilement être induit en erreur et croire qu'on a affaire avec une espèce autre que celle qui se trouve dans les taches déjà décrites.

Dans la couche de gélatine de l'une des lames de verre couvre-objet, il peut se développer 60 taches de végétations, et même en supposant, ce qui arrive quelquefois, qu'on n'en puisse employer que la moitié, une seule chambre suffit donc pour donner un grand nombre de cultures pures.

4. **Transport des cultures pures des taches dans un liquide nourricier**: Pour cette opération encore plus que pour les précédentes, il importe que l'air soit pur et en repos et les appareils complètement stérilisés. Les préparatifs généraux sont les mêmes. Il faut avoir sous la main une paire de pinces avec les fils de platine décrits plus haut et, en tant qu'on emploie plus d'une tache de la même lame couvre-objet, un nombre convenable de petites cloches avec leurs plaques de verre. Pour la culture dans un liquide nourricier, on se sert en général au laboratoire des ballons à deux cols de Pasteur ($^1/_8$ de litre) avec du moût houblonné stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball.). La Fig, 3 représente, à une échelle reduite, un de ces ballons reposant sur un support en liège. Le tube mince est fermé à son extrémité avec un bouchon d'asbeste; au tube droit est adapté un tuyau en caoutchouc qui est fermé avec un bouchon en verre. S'il ne s'agit d'obtenir une culture pure que d'une seule espèce, on emploie 4—5 de ces ballons. Ce grand nombre a pour but de mettre l'opérateur à même d'obtenir une sorte de contrôle, en comparant les végétations développées dans les ballons, et de s'assurer qu'on obtient une végétation des cellules semées. Par accident il peut en effet entre autres arriver qu'un des ballons soit infecté par un organisme étranger, ou qu'il ne s'y développe aucune végétation, par ex. si

le fil de platine employé pour l'infection était trop chaud.

Les chambres sont examinées au microscope; on cherche les végétations dont les origines ont été vérifiées à l'avance pour avoir la certitude que les taches à employer proviennent chacune d'une seule cellule. Avec un pinceau fin et un peu de couleur blanche, on délimite ensuite sur la lame couvre-objet les taches qui ont été choisies; a-t-on en commençant l'essai employé l'appareil de Klönne & Müller, c'est naturellement superflu.



Fig. 3.

Une des lames couvre-objet est ensuite détachée de son anneau et placé, les taches tournées en haut, de préférence sur un fond obscur pour qu'elles ressortent bien distinctement. A l'aide d'une des pinces, on prend de la main droite un fil de platine et, après l'avoir passé rapidement dans la flamme d'une lampe voisine à gaz ou à esprit de vin, touche une des taches choisies. Si la lame couvre-objet doit être employée plus souvent, il faut naturellement chaque fois la recouvrir d'une petite cloche. De la main gauche on enlève le tuyau en caoutchouc d'un des ballons Pasteur, et, au même instant, porte de l'autre main le fil de platine infecté dans l'ouverture dénudée du tube, où on le laisse tomber. Le tube est ensuite incliné autant que cela peut se faire sans que liquide sorte, et amené en même temps dans la flamme, où il est réuni au tuyau en caoutchouc. Au lieu du ballon ci-dessus décrit, on peut aussi employer le modèle de Chamberland (Fig. 2 pag. 96) ou de Salomonsen; celui-ci a une ouverture plus étroite et, au lieu du capuchon en verre, un tuyau en caoutchouc, dont la partie supérieure est remplie de coton stérilisé; dans quelques cas, ces derniers ballons peuvent même être à préférer. Dans certaines occasions, on se servira également avec avantage des flacons représentés Fig. 4 en les fermant avec deux couches de papier à filtrer stérilisé. Pour les recherches sur les levûres alcooliques, une expérience de plusieurs années m'a montré que les ballons Pasteur sont en général les meilleurs. La question, dans tous les cas, est de travailler avec sûreté et aussi rapidement que possible. Pour ne pas agiter l'air plus que nécessaire, on attend pour secouer les ballons infectés qu'ils soient tous prêts. En ce qui concerne le ballon Pasteur, il faut en même temps qu'on le secoue faire rougir le tube mince recourbé, comme autrement on n'a aucune certitude que l'air qui y pénètre soit stérilisé. L'examen des chambres, le choix des taches microscopique et l'infection de 5 ballons avec ce qui s'y rapporte prennent env. 1 heure.



Fig. 4.

Après avoir été munis d'étiquettes, les ballons sont placés dans un thermostat à 25—28 ° C. Dans le cours de 1—2 jours on observe un

développement bien marqué, et au bout de 2 jours, la fermentation est ordinairement en pleine activité, et il s'est formé une quantité assez grande de levûre. Cette règle s'applique bien surtout aux Saccharomyces, mais en somme aussi à la plupart des espèces nommées dans ce mémoire; cependant le Mycoderma vini, le Myc. cerevisiæ et plusieurs formes voisines ne donnent pas lieu, comme on sait, à de pareils phénomènes de fermentation.

Jusqu'au moment où l'on ouvre les chambres, cette méthode se distingue par son absolue certitude, mais avec l'ouverture des chambres commence en même temps l'incertitude, car une infection provenant des vêtements de l'opérateur, de l'air, etc. devient alors possible et d'autant plus dangereuse qu'on n'a pas encore obtenu une culture en grand de cellules vigoureuses pour soutenir, au besoin, la concurrence contre des rivaux étrangers. Sous ce rapport, la méthode est inférieure à celle que j'avais d'abord élaborée (pag. 94). Le plus sûr sera donc de n'employer qu'une seule tache de chaque lame de verre couvre-objet.

Mais, pour ne pas non plus travailler ici au hasard et en aveugle, on peut, pendant le temps employé á infecter les ballons, placer à côté quelques flacons ouverts à large goulot et renfermant du moût stérilisé comme les ballons, puis, quand ceux-ci sont prêts, les fermer en les coiffant de deux couches de papier à filtrer stérilisé et les mettre ensuite dans le thermostat à 25—28^{0} C. De cette manière on est renseigné sur le contenu de l'air, pendant le temps dont il s'agit, en microorganismes pouvant se développer dans le liquide nourricier employé. Dans mon mémoire cité plus haut, j'ai déjà montré qu'en général ce danger ne sera pas grand si l'on travaille dans une pièce propre et un air tranquille. Plus tard il a été fait un assez grand nombre d'analyses suivant la méthode ici décrite, et elles ont donné pour résultat que, sur 3 flacons, il y en avait en moyenne 2 d'infectés. Cette infection était due exclusivement au Penicillium glaucum; dans aucun cas je n'ai trouvé de bactéries ni de cellules de levûre.

5. **Examen des végétations des ballons et choix de la ou des espèces qu'on veut avoir:** Il a été dit plus haut qu'en remplissant les conditions que j'ai indiquées, on obtiendrait une culture en grand au bout de 2 jours env. En tant que, dans le transport des cellules des taches dans les ballons, on a pu éviter toute infection étrangère, chaque ballon renfermera aussi une culture pure. Les flacons ci-dessus mentionnés, de même que les analyses dont il sera question plus bas, peuvent fournir quelques renseignements sur ce point faible de la méthode. De chaque ballon on prend maintenant, avec tout le soin nécessaire, un échantillon qui est examiné au microscope. Les ballons dont les cellules sont semblables renfermeront aussi souvent la même espèce. Mais ici il faut se rappeler que les différences qui, dans les conditions indiquées, peuvent se présenter, sont en général petites et exigent pour être remarquées un œil très exercé. L'examen microscopique à lui seul n'offre pas une garantie suffisante; il faut le combiner avec les autres moyens de contrôle dont on dispose, botaniques ou chimiques. Comme on le voit par mes mémoires, le développement des ascospores et les végétations des voiles jouent un rôle important dans l'analyse des Saccharomyces.

Nous avons montré comment on peut, d'une manière sure et relativement facile, obtenir des cultures pures de Saccharomyces et de microorganismes analogues. Naturellement, il sera toujours possible d'apporter des modifications à ces méthodes; mais, dans tous les cas, le problème à résoudre restera le même. Dans ce qui précède, j'ai communiqué les résultats de l'expérience acquise par un travail de plusieurs années dans le laboratoire de Carlsberg. J'ai principalement insisté sur ce point, que chaque travail doit être exécuté avec sûreté et sous un contrôle constant. D'après le modèle que M. Pasteur, plus que tout autre, a donné dans ces ouvrages, et que tous ceux qui ont visité son célèbre laboratoire ont vu réalisé, j'ai cherché à montrer combien il importe de travailler avec soin et précaution, et que toute faute à cet égard s'expie.

Bien que ces communications, d'après leur nature, s'adressent surtout à des commençants, je suppose cependant aussi que l'expérimentateur plus exercé pourra en retirer quelque profit, et pour mes élèves elles seront un souvenir de mes leçons.

Il reste à expliquer comment on emploie les petites portions obtenues de levûre absolument pure pour produire les grandes masses que consomme l'industrie, comment on procède au choix d'une race convenable, et comment elle doit être traitée pour qu'on puisse obtenir tout de suite un résultat favorable. Je dois cependant remettre à une autre fois de donner une communication détaillée là dessus, et me borner à me référer à ce que j'ai déjà publié sur ces questions. La raison en est que, sous ce rapport, de nouvelles améliorations seront, je l'espère, prochainement introduites dans la brasserie de Vieux Carlsberg. Pendant l'année 1885, M. Kühle, directeur de la brasserie, et moi, nous avons travaillé á faire installer dans la cave même à fermentation un appareil pour la fabrication continue et en grand d'une levûre absolument pure, de manière que tous les 10 jours env. une grande portion de cette levûre soit livrée à la brasserie. La levûre ayant déjà servi et qui est un peu infectée sera ainsi, à de courts intervalles, remplacée par de la levûre absolument pure. Mais ces essais n'étaient pas encore terminés lorsqu'en novembre 1885 j'ai achevé ce mémoire. Les lecteurs qui déjà maintenant voudraient savoir comment on produit la levûre pure à l'usage de l'industrie, pourront en attendant consulter les remarques à ce sujet qui se trouvent dans mes mémoires, notamment dans Zeitschr. für das gesammte Brauwesen, München 1884, p. 273, et les renseignements qui, en partie d'après mes communications verbales, ont été publiés plus tard dans différentes revues zymotechniques, en particulier par MM. Aubry, Bělohoubek, Jörgensen et Will.

C'est en 1883 que j'ai commencé sur une grande échelle mes essais pratiques avec de la levûre pure, et que j'ai été autorisé par M. le capitaine Jacobsen, propriétaire des célèbres brasseries de Vieux Carlsberg et fondateur du laboratoire, à l'introduire dans sa fabrication. Lorsque les premières difficultès eurent été surmontées, et que M. Jacobsen se fut assuré qu'il s'agissait ici d'un véritable progrès, il l'appuya énergiquement

de sa grande autorité universellement reconnue. Malgré la méfiance avec laquelle beaucoup de brasseurs même intelligents accueillirent la levûre pure, elle fut cependant essayée en relativement peu de temps dans la plupart des pays producteurs de bière, et, pour le moment, elle est introduite comme un élément fixe de l'exploitation non seulement dans toutes les grandes brasseries danoises, mais aussi dans un très grand nombre de brasseries de l'étranger. Que, malgré l'opposition soulevée par la station d'essais de l'école Royale d'agriculture de Berlin, elle se soit cependant répandue rapidement dans les pays plus renommés pour la fabrication de la biére basse, l'Allemagne et l'Autriche, c'est là un résultat dont tout l'honneur revient au laboratoire de M. Aubry, à Münich.

VI.

LES VOILES CHEZ LE GENRE SACCHAROMYCES.

(PREMIER MÉMOIRE. AVEC LES PLANCHES I—VIII).

OBSERVATIONS GÉNÉRALES.

C'est un fait connu que la bière, le vin et autres liquides analogues se couvrent en général rapidement d'un voile, lorsqu'ils sont exposés dans un verre ouvert à l'action directe de l'air. Ces voiles peuvent être formés de différents microorganismes: Bactéries, Saccharomyces, cellules ressemblant à des Saccharomyces et moisissures. C'est tantôt une espèce, tantôt une autre qui prédomine, et le voile en reçoit aussitôt un cachet plus au moins particulier.

Dans les mémoires sur les bactéries, les moisissures et les levûres que j'ai publiés depuis 1878 dans ce recueil ou ailleurs, j'ai décrit successivement un grand nombre de formes qui produisent des voiles, et notamment donné des exemples d'une série d'espèces à cellules ressemblant à des Saccharomyces et différant plus au moins les unes des autres, qui forment des voiles analogues à ceux du Sacch. Mycoderma, et dont plusieurs du moins peuvent bien être déterminées par ce nom spécifique. Mais aucune de ces espèces ne développe les endospores si caractéristiques du genre Saccharomyces, et ne peut par conséquent y être rapporté. C'est ce que j'ai de nouveau vu confirmé en revoyant dernièrement mes recherches antérieures sur ce sujet. J'avais spécialement porté mon attention sur les formes produisant des voiles, qui apparaissent toujours avec tant de facilité sur la bière et qui, plus que toutes les autres, semblent être sous-entendues lorsqu'on nomme le nom spécifique de Sacch. Mycoderma. Sous ce nom systématique se cachent en réalité plusieurs espèces, et il n'a pas la même signification chez les différents auteurs.

Les formes auxquelles on applique surtout le nom de Sacch. Mycoderma se distinguent en ceci, qu'elles peuvent facilement et rapidement,

comme sans préparation, former des voiles sur plusieurs liquides organiques. Il ne semble pas que cette formation soit précédée d'aucune fermentation; cependant les cellules ne sont pas denuées de puissance fermentative. Leurs voiles ont du moins sur la bière et le moût un aspect sec et grisâtre; elles ont d'abord l'apparence d'une fine poussière, plus tard elles deviennent plus épaisses, se plissent ordinairement et prennent une couleur plus claire. Il y a un grand nombre de bulles d'air entre les cellules, et celles-ci, si on les sème dans un nouveau liquide nourricier, restent à la surface sans tomber au fond[1]).

D'autres espèces ressemblant à des Saccharomyces, par ex., la forme décrite dans mon mémoire sur les Torulas de M. Pasteur (voir le présent recueil, II Vol. 2 livraison, 1883, p. 49—50), forment aussi des pellicules qui rappellent beaucoup les précédentes, mais qui ne sont pas plissées. Les voiles formés par le Chalara Mycodorma et la Monilia candida en diffèrent davantage; chez le premier de ces organismes, ils ont en effet un aspect visqueux et un peu brillant et, chez le second, ils présentent des différences d'un autre genre.

Sous le nom de Monilia candida je désigne une moisissure qui, dans certaines phases de son développement, apparaît avec des cellules ressemblant à des Saccharomyces et remarquables surtout par leur propriété de provoquer, sans inversion préalable, la fermentation alcoolique dans une dissolution de saccharose, par conséquent de faire fermenter directement cette espèce de sucre. J'ai publié quelques communications à ce sujet dans la revue zymotechnique de Fasbender 1883 et dans les »Berichte der deutschen botan. Gesellsch.« 1884. Tandis que le voile du Mycod. cerevisiæ, dans une culture de moût, est formé sur-le-champ par les cellules semées à la surface, les cellules de la Monilia candida tombent au fond des ballons pour s'y multiplier comme levûre de depôt, pour provoquer la fermentation et enfin pour remonter de nouveau avec les bulles d'acide carbonique à la surface, où le voile se développe ensuite rapidement. De même que l'Oïdium lactis et plusieurs autres moisissures qui vivent à la surface des liquides, la Monilia candida peut aussi, dans un liquide nourricier convenable, développer une couche blanche, cotonneuse, qui diffère complètement de tous les autres voiles cidessus mentionnés (pour plus détails sur ces voiles, voir le texte danois, p. 168-- 171).

Des voiles d'une autre espèce que les précédents sont ceux de plusieurs des nombreuses levûres que M. Pasteur a appelées Torula, du Sacch. apiculatus et de tous les vrais Saccharomyces. La formation des voiles est en somme un phénomène très général dans le monde des microorganismes, et elle est aussi fréquente

---

[1]) Les cellules de levûre mycodermique mentionnées plus haut méritent évidemment une étude plus approfondie tant au point de vue théorique que pratique. Dans son intéressant mémoire »Ueber den Einfluss der Hefe auf die Qualität des Bieres« (Böhm. Bierbrauer, Prag 1885, p. 447), M. le professeur Bělohoubek appelle entre autres l'attention sur les masses considérables de bière qui annuellement sont gâtées par le Mycoderma cerevisiæ.

chez les bactéries que chez les champignons proprement dits et chez des formes appartenant à différentes divisions dans le système. On trouvera ci-après une description de la formation des voiles des levûres que nous venons de mentionner et des vrais Saccharomyces; elle est bien faite d'après des observations sur les Saccharomyces, mais, dans les limites de mes recherches, elle s'applique aussi en somme aux autres formes.

Expose-t-on, en ayant soin de ne pas les troubler, des cultures de Saccharomyces dans du moût stérilisé pendant un temps plus ou moins long à la température ordinaire d'un appartement, il apparaît successivement de petites taches de levûre tant sur les bords du liquide et contre les parois du verre que sur sa surface même; souvent elles se rassemblent pour former des lignes, des groupes et des ramifications réticulaires; à mesure qu'elles se développent, elles peuvent donner naissance à des îles assez grandes, dont la partie supérieure est assez plane et l'inférieure hémisphérique ou conique. Des îles en partie fusionnées et par conséquent peu cohérentes sont fréquentes. Plonge-t-on une baguette en verre dans une pareille masse, les différentes îles s'y déposent chacune séparément et on peut ainsi les pêcher pour les examiner plus à loisir. En continuant à croître, elles peuvent se réunir et finalement couvrir toute la surface d'un voile continu, qui souvent est accompagné au-dessus du liquide, sur les parois du verre, d'une ceinture entière de levûre. Les petites taches observées en premier lieu proviennent sans doute d'une seule cellule ou, tout au plus, de quelques cellules en très petit nombre qui, entraînées par le dégagement de l'acide carbonique, ont remonté à la surface. Cependant la formation proprement dite des voiles n'a lieu qu'à la fin de la fermentation principale et après la disparition de l'écume qui l'accompagne. Toutefois on peut avant ce moment observer des taches faiblement développées, pendant que la fermentation est encore assez active et qu'il se dégage en grand nombre des bulles .d'acide carbonique. Il y a des ballons où les voiles commencent à se former le long du bord du liquide comme un anneau, d'autres où le développement part du centre de la surface et de là se poursuit dans toutes les directions.

Dans ces conditions, on n'observe qu'un faible développement chez le Sacch. apiculatus et chez plusieurs formes des Torulas, tandis qu'il est très marqué chez les vrais Saccharomyces. Lorsque nos cultures sont restées en repos pendant quelques semaines sans être secouées, la surface du liquide est d'ordinaire plus ou moins complètement couverte d'un voile épais et entouré d'une large ceinture de levûre. On trouve souvent dans celle-ci une masse épaisse de levûre d'un gris jaune clair et d'un aspect mucilagineux; il en est de même de la membrane. Exceptionnellement, elle peut cependant aussi paraître plus sèche et ressembler par là aux membranes ci-dessus mentionnées du Mycoderma cerevisiæ. Elle est en général unie, plus rarement inégale et comme semée de petits tertres; dans ce dernier cas, elle avait souvent aussi un aspect cartilagineux. En s'épaississant, le voile et la ceinture de levûre prennent en même temps une teinte plus claire. Si l'on examine des voiles vieux et épais de Saccharomyces, on voit, surtout en secouant les ballons, qu'il s'en détache des fragments plus ou moins grands qui tombent au

fond, où il peut s'en former peu à peu toute une couche. Mais la partie restante plus au moins déchirée du voile peut se réparer elle-même et remplir peu à peu le vide produit; il n'est pas rare alors qu'il soit marbré de parties épaisses et plus claires, les plus anciennes, et de parties minces plus foncées, celles de formation récente. L'aspect de ces fragments et de ces grumeaux épais et mucilagineux rappelle beaucoup la formation des Zooglées chez les bactéries.

Parmi les nombreuses espèces de Saccharomyces dont j'ai étudié les voiles, se trouvent aussi les six sur lesquelles j'ai publié une série de recherches dans mes mémoires antérieurs. Ce sont principalement ces espèces que javais en vue dans la description qui précède.

En examinant leurs voiles au microscope, on s'aperçoit bientôt que les végétations peuvent y être assez différentes pour une seule et même espèce; c'est ce que montrent les Fig. 3, Pl. III—VIII. Ces figures représentent six groupes de cellules, chacun appartenant à une espèce et provenant tous de voiles formés dans des cultures poursuivies, pendant plusieurs mois, dans des ballons Pasteur à deux cols (Fig. 3, pag. 102) avec du moût houblonné stérilisé (env. 14 % Ball.), à la température ordinaire d'un appartement. Les cellules semées sont représentées sur les Pl. I—II; ces six groupes de figures nous montrent les végétations de nos six espèces, telle qu'elles se développent à cette même température, dans de la jeune levûre de dépôt dans les cultures de moût ci-dessus mentionnées, lorsque le liquide nourricier est renouvelé plusieurs fois à de courts intervalles. En infectant de cette levûre des ballons avec du moût, mais qui sont ensuite exposés pendant 24 heures à la température de 26 ° C., on obtient de la levûre de dépôt, dont les cellules ont un aspect semblable et présentent la même image. Les figures des Pl. I et II nous montrent en un mot des végétations jeunes et vigoureuses dans de la levûre ordinaire de dépôt, telles que je les employais pour infecter les ballons dans lesquels se développaient plus tard des voiles.[1]) Nous allons maintenant examiner de plus près les voiles dont il s'agit.

La Fig. 3, Pl. III, représente l'espèce désignée provisoirement sous le nom de Sacch. cerevisiæ I. Comme le montre la figure, quelques cellules sont isolées, tandis que d'autres sont réunies en colonies plus ou moins ramifiées, dont les éléments peuvent être ovales, en forme de boudin court ou très allongés; dans ce dernier cas, les colonies rappellent un peu un mycelium. Quelques cellules ressemblent à celles qui

---

[1]) On trouvera une description de ces six espèces dans mon mémoire »Les ascospores chez le genre Saccharomyces« (Résumé du compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2 livraison, Copenhague 1883, p. 32—33).

ont été semées (Fig. 1, Pl. I), mais elles ont en général pris une forme plus allongée et souvent aussi irrégulière. Les bourgeons, dans plusieurs cas, se comportent également d'une autre manière que chez la levûre ordinaire de dépôt. Cependant le plus remarquable, c'est que nous avons ici une espèce dont la forme habituelle de la levûre de dépôt, d'après le système jusqu'ici en usage, doit être regardée comme celle d'un Sacch. cerevisiæ type, mais dont le voile est composé de cellules entièrement différentes et ayant la même forme que celles d'un Sacch. Pastorianus bien caractérisé. Relativement à cette espèce comme aux suivantes, nous devons faire observer qu'un examen détaillé des figures donne, mieux que toute description, une représentation des rapports et des différences qui existent entre elles.

Dans la Fig. 3, Pl. IV, est répresentée une végétation correspondante du Sacch. Pastorianus I. On trouve également ici des cellules de la même forme que celles qui ont servi à l'ensemencement (Fig. 2, Pl. I); elles sont cependant en général plus petites, et il y en a parmi elles qui sont plus allongées et de forme baroque, quelquefois presque filiformes. Les colonies sont moins peuplées que chez l'espèce précédente.

La Fig. 3, Pl. V, représente le Sacch. Pastorianus II. Les remarques sur l'espèce précédente sont aussi en somme applicables à celle-ci (comp. la figure citée avec celle des cellules de l'ensemencement, Fig. 3, Pl. I).

La troisième espèce de ce groupe, le Sacch. Pastorianus III, est représentée Fig. 3, Pl. VI. Les cellules en forme de boudin et filiformes, souvent réunies en colonies remifiées et enchevêtrées, sont ici très prédominantes; plusieurs cellules ressemblent plus à des formes de bactéries qu'à des Saccharomyces. Il s'est en somme opéré une transformation très frappante (comp. les cellules de l'ensemencement, Fig. 1, Pl. II). Cependant on trouve aussi, comme à l'ordinaire, des cellules ressemblant à celles de l'ensemencement.

Dans la Fig. 3, Pl. VII, on voit des exemples d'une pareille végétation due au Sacch, ellipsoïdeus I. Le développement de colonies formées de cellules en forme de boudin, courtes et allongées, est ici ce qu'il y a de plus caractéristique. Les ramifications sont souvent verticillées ou opposées. On observe aussi des cellules de forme baroque, minces et très allongées, et d'autres de la même forme que celles de l'ensemencement (Fig. 2, Pl. II). Très frappante est la transformation qui a eu lieu: le Sacch. ellipsoïdeus type caractérisé dans sa forme de levûre de dépôt par ses cellules ovales, est devenu dans sa forme de voile un des Sacch. Pastorianus du système.

La dernière de mes six espèces, le Sacch. ellipsoïdeus II, présente un changement de forme principalement dans le même sens. Les cellules de l'ensemencement sont représentées Fig. 3, Pl. II, et celles du voile, Fig. 3, Pl. VIII.

Dans toutes les Fig. 3 des planches III—VIII, nous trouvons des exemples de formes irrégulières, comme aussi du fait q'une cellule mère a donné naissance à une couronne ou à un arbuste de bourgeons plus ou moins serrés les uns contre les autres. Cette forme de bourgeonnement n'est rare chez aucune des six espèces, et c'est seulement par l'effet

du hasard que les figures en donnent si peu d'exemples. Elle rappelle beaucoup la forme dont M. Reess a fait une espèce sous le nom de Sacch. conglomeratus. Un grand développement de cellules allongées, isolées et en colonies, ne s'est produit que dans les vieilles cultures, et le rapport entre ce développement et celui de cellules ovales et en forme de boudins courts a en général été variable, comme, de ces deux espèces de cellules, tantôt l'une tantôt l'autre était prédominante. Les figures ont été dessinées d'après les résultats de nombreuses cultures comparés ensuite avec ceux de plusieurs autres, et reproduisent les principales formes qui ont été observées. (Relativement à d'autres détails tant ici qu'ailleurs, voir le texte danois).

En comparant les six formes de voiles que nous venons d'examiner, on trouve qu'elles ont toutes dévéloppé des cellules plus allongées, et, en général aussi, des colonies plus complexes que les cellules ayant servi à l'ensemencement. Cette différence est surtout marquée chez le Sacch. cerevisiæ I et les Sacch. ellipsoïdeus I et II, dont les voiles, comme on l'a vu, assignent à ces trois espèces une tout autre place dans le système que leurs formes comme levûres du dépôt. Le Sacch. Pastorianus III se fait remarquer par son développement de cellules très allongées, souvent filiformes et ressemblant à des bactéries. Le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. Pastorianus II ont entre eux la plus grande ressemblance; il y en a également beaucoup entre le Sacch. ellipsoïdeus I et le Sacch. ellipsoïdeus II. Malgré la ressemblance entre nos six espèces, un examen plus attentif fait cependant découvrir des différences; mais elles sont d'une nature si difficile et si fine qu'on ne peut, à vrai dire, en donner d'autre expression que celle que nous montrent les groupes des figures, et prend-on les diverses cellules isolément, toutes les limites disparaissent. Ces indications, tout obscures qu'elles fussent, n'étaient cependant pas sans importance pour moi. En effet, dans mes recherches sur les microorganismes, je me suis, dès l'origine, toujours efforcé de trouver des caractères chez les formes sur lesquelles j'expérimentais, afin d'obtenir par là des points de départ fixes. Un des problèmes qui m'ont le plus occupé a ainsi été la question fondamentale et de nos jours si brûlante des espèces et de leur délimitation, et c'est ce qui a donné à mes travaux leur cachet botanique si marqué. C'est également surtout à ce point de vue que j'ai commencé les recherches exposées ici. Les observations ci-dessus mentionnées une fois terminées, la question pouvait recevoir une forme plus déterminée et être soumise à un traitement expérimental. On en trouvera les résultats les plus importants dans le chapitre suivant. Comme à l'ordinaire, dans le cours du travail principal il s'est ouvert de nouvelles voies indirectes; je donnerai également quelques renseignements à ce sujet.

EXPÈRIENCES.

En tant que, pour le moment, s'étendent nos connaissances, nous devons admettre que c'est une condition commune pour toutes les formations de voiles mentionnées dans le chapitre précédent, que les microorganismes sur lesquels on opère doivent avoir directement accès à l'air atmosphérique, et que l'afflux doit en être abondant pour que les voiles puissent se développer avec rapidité. C'est ce que confirment les essais faits avec des Saccharomyces. Prend-on, par ex., une série de ballons Pasteur exactement du même modèle, renfermant chacun une égale portion du même moût stérilisé, et, après les avoir infectés avec une levûre très susceptible de développer un voile, le Sacch. ellipsoïdeus II par ex., en plonge-t-on la moitié dans l'eau avec leur tube recourbé, de manière à les isoler du contact de l'air et à forcer l'acide carbonique provenant de la fermentation à se dégager à travers l'eau, on trouvera qu'il s'y forme bien après quelque temps un voile, mais qu'il se développe plus lentement et avec bien moins d'énergie que dans les ballons non isolés du contact de l'air. Dans les mêmes conditions, le développement des membranes est plus rapide dans les ballons Chamberland (Fig. 2, p. 96) que dans les ballons Pasteur, et encore plus rapide et plus marqué lorsqu'on se sert des flacons représentés p. 102 et coiffés de deux couches de papier à filtrer stérilisé. En outre, comme il est facile, dans ces flacons,. de prendre des échantillons en un point quelconque des voiles sans beaucoup les troubler, je les ai employés de préférence pour mes essais, et, en l'absence d'autre indication, c'est toujours eux que j'ai en vue. Ils avaient chacun une capacité de 142 c. c. et renfermaient 70 c. c. de moût houblonné clair stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball,), tel qu'on le trouve ordinairement dans les brasseries à fermentation basse. C'est ce liquide nourricier dont je me suis le plus fréquemment servi dans mes expériences sur les fermentations, et qui est si souvent mentionné dans mes mémoires. Les cellules destinées à l'ensemencement ont été préparées de la même manière que pour mes recherches sur la production des ascospores, et comprenaient les mêmes six espèces. Après que les cellules sur lesquelles on opérait avaient été cultivées quelque temps dans le moût à la température ordinaire d'un appartement, on en transportait un petit nombre, jeunes et vigoureuses. dans un nouveau moût de la même nature que le précédent, et les cultivait à 26—27 ^{0} C. pendant 24 heures env. Le liquide en fermentation était alors décanté et une égale portion du même moût versé sur le précipité de levûre, après quoi on secouait les ballons pour obtenir une égale répartition des cellules. Quelques gouttes de ce mélange étaient ensuite semées dans chacun des flacons ci-dessus décrits. Il va sans dire que tous ces travaux étaient exécutés de manière à éviter toute infection du dehors.

Avant d'aller plus loin, il est bon de jeter un coup d'œil sur les cellules qui ont servi de points de départ aux expériences; elles sont représentées Pl. I et II dans l'ordre où les espèces ont été traitées, tant dans ce mémoire que dans les précédents.

La Fig. 1, Pl. I, représente le Sacch. cerevisiæ I; il se compose en majeure partie de grandes cellules rondes et ovales, sans cellules allongées proprement dites.

Les cellules du Sacch. Pastorianus I (Fig. 2, Pl. I) ont en somme un autre aspect; elles sont d'ordinaire allongées en forme de boudin, mais parmi elles on trouve aussi, quoique seulement comme mélange secondaire, des cellules rondes et ovales plus ou moins grandes dont beaucoup ressemblent à l'espèce précédente, Ce qui est dit du Sacch. Pastorianus I s'applique aussi aux autres espèces du même groupe, le Sacch. Pastorianus II (Fig. 3, Pl. I) et le Sacch. Pastorianus III (Fig. 1, Pl. II). Dans les essais de cultures dont il s'agit, ils sont en somme tous les trois presque identiques. Les différences, comme le montre un coup d'œil jeté sur les figures, sont en tout cas très petites.

Le Sacch. ellipsoïdeus I (Fig. 2, Pl. II), en ce qui concerne la forme, est très voisin du Sacch, ellipsoïdeus II (Fig. 3, Pl. II); ces deux espèces se distinguent par la prédominance des cellules rondes et ovales; elles ont aussi l'une et l'autre des cellules en forme de boudin, mais qui, en général, ne sont guère aussi nombreuses que le montrent les figures.

Compare-t-on maintenant entre eux les 6 groupes de cellules représentés sur les Pl. I et II, on trouve qu'il est assez facile d'y distinguer 3 divisions, dont la première comprend le Sacch. cerevisiæ I, la deuxième les 3 espèces du groupe Sacch. Pastorianus et la trosième, les 2 espèces du groupe Sacch. ellipsoïdeus. Cela n'est vrai cependant que pour les cultures pures et dans les conditions d'existence mentionnées plus haut.

Comme les espèces ainsi cultivées pendant des années et à travers des générations sans nombre, sous les mêmes influences extérieures, ont constamment montré les mêmes différences, cela indique une différence chez les cellules mêmes, quelque chose qui leur est propre. Les conditions d'existence viennent-elles à changer, les choses, comme on le verra dans ce qui suit, se passent autrement. J'ai déjà, dans des travaux antérieurs, montré l'influence des facteurs extérieurs sur le développement de la forme des cellules[1]); nous ferons maintenant, dans un nouveau domaine, plus intime connaissance avec la grande variabilité qui peut s'y manifester, variabilité si grande que tout semble être fluide. L'observateur attentif en aperçoit cependant les limites et distingue le stable dans l'instable. Nous nous efforcerons de trouver les lois de ce courant de métamorphoses que les expériences déterminent.

Les cultures ci-dessus décrites des six espèces une fois semées chacune dans un flacon contenant du moût. les flacons étaient de nouveau coiffés convenablement de papier à filtrer et exposés aussitôt dans un thermostat à une série de températures décroissantes. On avait soin

---

[1]) Voir notamment mon mémoire sur la formation des ascospores p. 42. J'y fais voir comment le Sacch. cerevisiæ (forme de levûre basse de la bière), après un certain traitemeut, développe à 27° C. des cellules à l'aspect typique normal, mais à $1\frac{1}{2}$° C. des colonies enchevêtrées avec des ramifications ressemblant à du mycelium.



que, peu de temps avant l'infection, ils eussent la température voulue. Comme point de départ commun pour l'examen microscopique, on étudiait toujours les premières traces de la formation des voiles, dès qu'ils étaient assez distincts pour pouvoir être observés avec certitude à l'œil nu. Les végétations en provenant sont représentées Fig. 1 et 2, Pl. III—VIII. Les végétations qui se sont produites après un long délai ont aussi été étudiées, et les résultats en sont également indiqués. Chaque espèce a été l'objet d'un grand nombre d'essais. Voici les résultats auxquels je suis arrivé.

Sacch. cerevisiæ I.

(Pl. III, Fig. 1—3).

A 38 ° C. aucune formation de voile.
- 33—34 ° C au bout de 9—18 jours, taches faiblement développées. avec une végétation comme .... Fig. 2.
- 26—28 ° C. au bout de 7—11 jours - .... Fig. 2.
- 20—22 ° C. — 7—10 jours - .... Fig. 2.
- 13—15 ° C. — 15—30 jours - .... Fig. 1.
- 6—7 ° C. — 2—3 mois - .... Fig. 1.
- 5 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus I.

(Pl. IV, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 8—15 jours - .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 15—30 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2, cependant sans grandes colonies.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus II.

(Pl, V, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 8—15 jours - .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 10—25 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus III.

(Pl. VI, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 9—12 jours — .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 10—20 jours — .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois — .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois — .... Fig. 2, cependant sans colonies fortement développées.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. ellipsoïdeus I.

(Pl. VII, Fig. 1—3),

A 38 ° C. aucune formation de voile.
- 33—34 ° C. au bout de 8—12 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 26—28 ° C. au bout de 9—16 jours - .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. — 10—17 jours - .... Fig. 1, cependant en général avec une tendance vers.. Fig. 2.
- 13—15 ° C. au bout de 15—30 jours comme .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 2—3 mois - .... Fig. 1.
- 5 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. ellipsoïdeus II.

(Pl. VIII, Fig. 1—3),

A 40 ° C. aucune formation de voile.
- 36—38 ° C. au bout de 8—12 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 33—34 ° C. au bout de 3—4 jours - .... Fig. 1.
- 26—28 ° C. — 4—5 jours - .... Fig. 1 et 2.
- 20—22 ° C. — 4—6 jours - .... Fig. 1 et 2.
- 13—15 ° C. — 8—10 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Dans l'exposé qui précède de mes recherches sur la formation des six espèces de voiles à différentes températures, les figures jouent un rôle très essentiel. Elles ont été exécutées en partie par moi-même, en partie par mon aide, M. Holm, et dessinées d'après nature. J'ai attaché de l'importance à ce qu'elles donnassent une idée aussi complète qu'exacte des formes sous lesquelles se montre chaque espèce dans les conditions indiquées; il ne peut naturellement être question d'épuiser la matière, car les cellules de chaque espèce peuvent, jusque dans la même

culture, présenter une infinité de petits changements de forme, et il s'agissait donc seulemeut de saisir les traits prédominants et de les fixer. Dans ce qui suit, nous jetterons d'abord un coup d'œil sur l'ensemble des formes de voiles de chaque espèce, et comparerons ensuite entre elles les six espèces pour voir quels sont les enseignements qu'on peut retirer de cette comparaison.

Nous commencerons, comme d'habitude, par le Sacch. cerevisiæ I. La Fig. 2, Pl. III, en représente, on se le rappelle, la végétation à des températures plus élevées (20—34 ⁰ C.). En la comparant avec la semence (Fig. 1, Pl. I), on voit que les colonies sont devenues plus nombreuses et que les cellules en forme de boudin ou de forme un peu baroque ne sont pas rares. Les végétations, aux températures de 15—6 ⁰ C., ont une ressemblance plus grande avec la semence (Fig. 1, Pl. III).

Le Sacch. Pastorianus I, dans les cultures à 20—28 ⁰ C. (Fig. 1, Pl. IV), est assez semblable à la semence (Fig. 2, Pl. I); cependant les cellules sont en général plus petites et plus fluettes (dans la Fig. 1, quelques-unes des cellules allongées ne sont pas bien dessinées). Au-dessus de 15 ⁰ C., elles devenaient d'ordinaire plus grandes et plus vigoureuses, et à 13—15 ⁰ C. apparaissaient généralement des colonies fortement développées, ressemblant à du mycelium (Fig. 2, Pl. IV). Comme d'habitude, on a observé dans les différentes cultures de cette espèce, de même que des autres, quelque variation dans le rapport entre les cellules ovales et les cellules courtes en forme de boudin, d'une part. et les colonies ci-dessus mentionnées, de l'autre.

Chez le Sacch. Pastorianus II, les végétations à 20—28 ⁰ C. (Fig. 1, Pl. V) ressemblent aussi à la semence (Fig. 3, Pl. I); particulières sont seulement les cellules baroques en forme de boudin qui se développent ici assez souvent. A 15—3 ⁰ C., par contre, les végétations (Fig. 2, Pl. V) renferment en grande majorité des cellules rondes et ovales et ont ainsi perdu leur type pastorien.

Le Sacch. Pastorianus III a, nous l'avons vu, développé à 20—28 ⁰ C. des végétations qui, de même que les précédentes, ressemblent assez à la semence (comp. Fig. 1, Pl. VI, avec Fig. 1, Pl. II). Mais, à 15—3⁰ C., elles en diffèrent nettement par leurs colonies fortement développées de cellules allongées en forme de boudin et filiformes (Fig. 2, Pl. VI), par quoi elles se rapprochent beaucoup des cellules des vieux voiles de la Fig. 3. C'est cette espèce dont les colonies ont la plus grande ressemblance avec un vrai mycelium.

Le Sacch. ellipsoïdeus I, à 20—34 et 6—7 ⁰ C., a des cellules en forme de boudin plus petites et relativement plus nombreuses (Fig. 1, Pl. VII) que la semence (Fig. 2, Pl. II). A 13—15 ⁰ C. ses végétations se distinguent par leurs colonies richement ramifiées et fortement développées de cellules en forme de boudin courtes ou allongées, souvent avec des rameaux verticillés, complètement différentes de la semence et ressemblant aux vieilles cultures Fig. 3. C'est une des plus intéressantes métamorphoses que les expériences aient provoquées.

Dans le Sacch. ellipsoïdeus II, nous avons une espèce qui a cela de caractéristique que les cellules des voiles, dans les premières phases, ont a peu près la même forme à toutes les températures depuis 3 jusqu'à

38 ^{0} C. (Fig. 1 et 2, Pl. VIII), et en somme elles ressemblent également à celles de la semence (Fig. 3, Pl. II); elles sont seulement en général plus petites. A 15 ^{0} C. et aux basses températures, elles étaient peut-être un peu plus allongées qu'à des températures plus élevées.

Ces voiles du Sacch. cerevisiæ I, du Sacch. Pastorianus II et du Sacch. ellipsoïdeus II ne renferment pas les colonies fortement développées de cellules allongées ressemblant à du mycélium qui sont reproduites sur les Fig. 3 des planches correspondantes, et qui, on se le rappelle, représentent les voiles vieux de plusieurs mois cultivés dans des ballons Pasteur à la température ordinaire d'un appartement. C'est seulement après que la culture a été continuée plusieurs jours ou plusieurs semaines au-delà du temps indiqué dans les tableaux que ce développement se produit; il n'est par suite pas difficile de séparer ces deux phases l'une de l'autre. Par contre, des végétations ayant le même aspect que celles de ces vieilles cultures se trouvaient dès l'origine dans les voiles du Sacch. Pastorianus I et, à un plus haut degré encore, dans celles du Sacch. Pastorianus III et du Sacch ellipsoïdeus I. Chez toutes les espèces, une culture continuée pendant longtemps donne en général naissance à des végétations avec des cellules plus allongées, de sorte qu'apparaissent successivement pour chaque espèce les formes représentées sur les Fig. 3.

En s'approchant des températures limites, les végétations perdent de leur vigueur; tel est surtout le cas pour le développement aux températures plus élevées, où les cellules, au bout de très peu de temps, ont l'air d'être mortes. Des essais faits avec chaque espèce nous ont appris comment on peut, jusqu'à un certain degré, gouverner le développement et déterminer les changements de forme des cellules.

En considérant les six planches avec les végétations des membranes, on a aussitôt l'impression de se trouver en face d'un nombre aussi grand des levûres différentes; nous allons maintenant en faire une comparaison exacte et indiquer ensuite les principales différences.

Les Fig. 1 des planches IV, V, VI et VII ont entre elles une grande ressemblance; elles représentent, comme il a été dit plus haut, les trois espèces du groupe Pastorianus et le Sacch. ellipsoïdeus I. De ces figures se séparent assez nettement la Fig. correspondante 1, Pl. VIII, du Sacch. ellipsoïdeus II et la Fig. également correspondante 2, Pl. III, du Sacch. cerevisiæ I. Les végétations des voiles aux températures plus élevées ne nous sont donc que d'un faible secours pour distinguer les unes des autres de nos six espèces. Il en est tout autrement si nous considérons à leur origine les voiles qui se développent à 13—15 ^{0} C., et qui sont représentés Fig. 2, Pl. IV, V, VI, VII et VIII, et Fig. 1. Pl. III; ils nous montrent des différences frappantes entre plusieurs de ces espèces. Il est particulièrement important pour nous que le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III, qui tous deux sont des formes de fermentation haute, et dont les cellules de la semence (Fig. 3, Pl. I et Fig. 1, Pl. II) ne peuvent avec certitude être distinguées l'une de l'autre, apparaissent ici avec des végétations entièrement différentes (Fig. 2, Pl. V

et Fig. 2, Pl. VI); il en est de même des Saccharomyces ellipsoïdeus I et II, dont les cellules de la semence sont similaires. (Comp. Fig. 2, Pl. VII avec la Fig. 2 correspondante, Pl. VIII).

En joignant un examen microscopique des cellules semées à un examen analogue des cellules des voiles, nous pourrons donc déterminer nos six espèces par la forme des cellules. Il ne se présente de veritables difficultés que lorsqu'il s'agit de distinguer le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. Pastorianus II; il faut alors, dans les cas douteux, s'aider d'autres caractères. On se rappellera, d'après mes recherches antérieures, que la température maximum pour le développement des ascospores est un peu plus élevée chez le Sacch. Pastorianus I que chez le Sacch. Pastorianus II, et que le premier est une forme de fermentation basse, le second, au contraire, une forme de fermentation haute.

Les indications de temps dans les tableaux précédents ont seulement pour but de donner une idée approximative du temps qui s'écoule aux différentes températures avant l'apparition de formations macroscopiques distinctes de voiles. L'indiquer d'une manière tout à fait exacte n'est par la nature même des choses guère possible. Déjà dans l'écume qui se forme au commencement de la fermentation apparaissent les cellules de levûre, dont la multiplication, à mesure que l'écume disparaît, couvrira plus tard, plus ou moins vite ou lentement, la surface du liquide d'un voile; il n'y a pas de limites bien marquées dans la marche de ce développement, et les séries d'essais faites avec les mêmes espèces donnent aussi à cet égard des résultats un peu différents. D'un plus grand intérêt sont pour nous les températures minima et maxima, qui, comme le montrent les tableaux, sont différentes pour les différentes espèces. D'après ces minima et ces maxima, nos six espèces se laissent diviser en trois groupes.

En comparant les limites de températures trouvées dans mes recherches sur les ascospores avec celles dont il s'agit, on voit qu'elles sont différentes chez la même espèce. Le développement des ascospores et la formation des voiles ont cependant cela de commun, qu'ils dépendent tous deux des températures en ce sens que, dans les limites où ils peuvent avoir lieu, ils se produisent plus lentement aux basses températures et plus rapidement aux températures plus élevées. Aux températures voisines des minima et des maxima, le développement des voiles était toujours très faible, et elles ne couvraient jamais toute la surface du liquide.

Aux températures supérieures à 13° C. le Sacch. ellipsoïdeus II avait toujours le développement le plus rapide et le plus marqué, et c'était si frappant que, par là seulement, on pouvait toujours parmi les autres flacons reconnaître ceux qui renfermaient cette espèce; mais, aux températures inférieures à 13° C., il était un peu en arrière du Sacch. Pastorianus III. Un voile complet s'étendant comme une couche épaisse sur toute la surface du liquide s'est, chez le Sacch. ellipsoïdeus II par ex., formé au bout de 6—12 jours à 22—23° C., tandis que cette formation, chez les cinq autres espèces, exigeait plus du triple de ce temps,

en tant toutefois qu'elles se développaient avec la même énergie, A la chaleur ordinaire d'un appartement avec la température variable des différentes heures du jour, cette espèce se distinguait également par le développement rapide et vigoureux de son voile. Cependant. aux basses températures dont il s'agit, surtout pendant la nuit, le développement était plus lent qu'à la température ci-dessus mentionnée, et le Sacch. Pastorianus III pouvait rivaliser avec elle. Dans les recherches qui précèdent, nous ne nous sommes occupé que des formations de voiles à la surface même du liquide, et avons laissé de côté les végétations qui se développent au-dessus de ce dernier sur les parois mêmes du verre. Pour plus de détails, voir le texte danois, p. 185.

On voit par les tableaux p. 114—115 que la formation des voiles chez le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. ellipsoïdeus I s'arrête dans le voisinage de 38 et, chez le Sacch. ellipsoïdeus II, aux environs de 40 ^{0} C., tandis que, chez les trois espèces du groupe Pastorianus, cet arrêt a lieu déjà au-dessous de 34 ^{0} C. Ce fait est en connexion avec ce que j'ai indiqué dans un mémoire antérieur, à savoir que les températures maxima pour le bourgeonnement ne sont pas les mêmes pour les differentes espèces. Mais le bourgeonnement et la fermentation ont lieu au-dessus de la température à laquelle aucun voile ne peut se développer. Il résulte du texte danois (p. 186) qu'on s'est trompé en croyant pouvoir établir la règle que les levûres de fermentation haute peuvent se développer à des températures plus élevées que les levûres de fermentation basse. Inversement, il y a des levûres de fermentation haute qui, à de basses températures, se développent avec plus d'énergie que certaines levûres de fermentation basse (par ex. le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III en opposition au Sacch. ellipsoïdens I). D'après les points de vue que nous venons d'exposer, et qu'on trouvera plus développés dans le texte danois, nous pouvons diviser nos six espèces en deux groupes, et nous apprenons que les espèces qui ont les températures maxima les plus hautes pour le bourgeonnement et la fermentation, les ont aussi pour la formation des voiles,

---

En examinant la levûre de dépôt provenant des cultures faites dans les flacons et décrites plus haut, j'ai observé que, dans la plupart des cas, elle avait l'aspect pâteux ordinaire des masses de levûre, mais que, dans d'autres cas, elle formait au fond du flacon une couche membraneuse froncée. Tel était le cas pour le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III. Chez le premier, elle etait cependant pâteuse à la plupart des températures et, en général, ne devenait membraneuse qu'au-dessous de 7 ^{0} C.; chez le second, il se développait de la levûre de dépôt pâteuse dans les cultures faites aux températures comprises entre

35 et 22 ° C., après quoi elle commençait à devenir membraneuse et froncée et, entre 14 et 1 ° C., cette forme était très marquée.[1])

La levûre de dépôt membraneuse, chez les deux formes de fermentation haute précitées, se composait principalement de colonies fortement développées ressemblant à du mycelium, et présentait par suite au microscope une image bien différente de celle de la semence. En prolongeant les cultures un temps suffisant, j'ai constaté que les cellules de levûre de dépôt des espèces différaient dans plusieurs cas de celles de la semence, et qu'il était aussi possible, par cette voie, d'obtenir des caractères morphologiques et physiologiques. En faisant des essais de cultures sur un substratum solide à de hautes températures, j'ai eu l'occasion de faire des observations analogues. Ces études nous ont ainsi fourni une nouvelle preuve de l'influence qu'exercent les températures. La même espèce, sous une influence extérieure variable, peut se comporter d'une manière toute différente et présenter un tout autre cachet; mais, réciproquement, on trouve aussi que l'influence dont il s'agit a des limites et que nos six espèces réagissent d'une manière différente, preuve qui il y a des facteurs internes, inhérents aux cellules, qui exercent leur action.

Un des résultats pratiques de mes études sur les levûres alcooliques consiste en ceci, qu'elles ont conduit au développement d'une méthode pour les analyses de la levûre des brasseries. C'est en grande partie sous l'influence de la pratique elle-même que mes travaux ont été entrepris. Lorsque, il y a environ dix ans, je commençai à travailler pour les grandes brasseries de Carlsberg et fus, en particulier, chargé d'analyser la levûre et d'en suivre le développement pendant la fermentation, je sentais souvent combien se réduisait à peu de chose ce qu'on pouvait faire dans ce domaine. L'analyse, telle qu'elle était alors possible, se bornait à rechercher si la levûre renfermait ou non des bactéries et des moisissures. Je remarquai bien assez vite que, dans la masse même de la levûre et dans ces cellules de Saccharomyces en apparence identiques, devaient se cacher de grands et importants secrets, et que c'était juste ment là qu'il fallait porter l'attaque, mais la littérature existante ne donnait aucun éclaircissement à ce sujet. Mon travail n'aboutissant à aucun résultat et l'exploitation de la brasserie me posant tous les jours des questions à résoudre, je ne tardai pas à voir que je devais ou me frayer une nouvelle voie ou me retirer. Je résolus donc d'essayer dans la

1) La note p. 187 du texte danois explique comment l'aspect de la levûre de dépôt, du moins dans certains cas, dèpend du mode de culture auquel l'espèce de levûre avec laquelle on opère est soumise. On peut par là obtenir une levûre pâteuse, membraneuse et caséeuse. La clarté et la couleur du liquide fermenté sont en connexion étroite avec ces variations dans la levûre.

faculté. Les unes intervertissent les dissolutions de saccharose et les autres, non. Parmi ces formes, il y en a au moins une qui, en opposition avec les autres décrites par moi, produit rapidement des membranes à la surface des liquides nourriciers sur lesquels elle est semée, que ces liquides renferment ou non de l'alcool.

IV.

Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques.

Parmi les maladies que les ferments alcooliques peuvent provoquer dans la bière, il y en a une qui, dans les dernières années, a attiré tout particulièrement l'attention aussi bien en Danemark que notamment en Allemagne. Elle a occasionné de grandes pertes dans beaucoup de brasseries et, malgré tout ce qui a été écrit à ce sujet, elle reste toujours encore une énigme menaçante. Je veux parler de la maladie qui est connue sous le nom de trouble de la levûre. Après que la bière basse est restée le temps voulu dans les caves de garde et qu'on a procédé au soutirage, elle est parfaitement claire et il est impossible, à l'œil nu, d'y découvrir de la levûre, mais dès que les fûts ou les bouteilles où elle a été soutirée ont été exposés pendant quelques jours à une température plus élevée que celle des caves de garde, par ex. à la température ordinaire d'un appartement, il s'y forme un précipité plus ou moins abondant de levûre, et il suffit d'une légère secousse pour qu'elle se répande dans le liquide et le rende trouble. Il y a plusieurs degrés dans cette maladie; est-elle très développée, la bière qui en est attaquée est déjà fortement chargée de levûre 1—2 jours après le soutirage, et cesse d'être potable; l'est-elle moins, la bière peut se conserver plusieurs jours, surtout si la température n'est pas trop élevée, mais jamais aussi longtemps que la bière saine.

Comme nous l'avons dit plus haut, cette question si importante pour l'industrie des fermentations a donné lieu à de nombreuses publications. Elle a été traitée dans tous les ouvrages récents sur la fabrication de la bière et discutée dans des mémoires qui ont paru dans des revues spéciales. On y a comparé les observations recueillies dans la pratique et émis des hypothèses sur la cause du mal. Quelques auteurs pensent que c'est une levûre étrangère, le Sacch. exiguus, qui provoque la maladie; d'autres supposent au contraire qu'elle est causée par une dégénération de la levûre ordinaire même des brasseries, le Sacch. cerevisiæ, qui, par suite, au lieu de développer des cellules grandes et lourdes, n'en donne que de petites et de légères.

Cette littérature, qui est l'expression des idées que des praticiens réfléchis se sont formées du phénomène, renferme de bons avis qui méritent d'être médités. Toutefois, il est évident que la question ne peut être résolue par une discussion basée sur des observations éparses, mais seulement par une recherche expérimentale conduite

avec méthode. C'est une recherche de ce genre qui est publiée ici pour la première fois.

Il y a quelques années, une des grandes brasseries de Copenhague eut le malheur de voir la maladie dont il s'agit se glisser dans son exploitation. Elle y sévit assez longtemps et causa beaucoup de dommage. C'est seulement après avoir arrêté la fabrication, et fait nettoyer à fond, peindre et vernisser aussi bien les locaux que les cuves et tout l'outillage, qu'on réussit à se rendre maître du mal, et quand l'exploitation fut reprise avec de la bonne levûre d'un autre établissement, la bière put de nouveau se conserver comme auparavant. Voulant essayer d'éclaircir, si c'était possible, ce qu'il y avait d'obscur dans cette affaire, je m'adressai au directeur de la brasserie pendant que la maladie était encore à son point culminant, en le priant de me laisser prendre de temps à autre des échantillons de la bière dans ses différents états. Ces échantillons et les renseignements que je désirais me furent communiqués avec la plus grande obligeance, et je lui en exprime ici mes remercîments.

A l'aide des méthodes exposées dans un de mes précédents mémoires, j'isolai les microorganismes qui se trouvaient dans la bière malade. J'obtins ainsi trois espèces de ferments alcooliques: le Sacch. cerevisiæ (levûre basse qui constituait la partie principale de la levûre de la dite brasserie), le Sacch. Pastorianus III (une forme de levûre haute p. 34) et le Sacch. ellipsoideus II (une forme de levûre basse p. 35).

Je cherchai ensuite à constater si la maladie était due à l'une des deux dernières levûres. Dans ce but, je disposai d'abord une série d'expériences avec 6 ballons Pasteur contenant chacun 700 cent. cub. du même moût stérilisé, et dont deux étaient marqués *A*, deux, *B* et deux, *C*. Dans chacun des deux ballons marqués *A*, je semai 1,25 c. c. de Sacch. cerevisiæ, dans chacun des deux ballons marqués *B*, 1 c. c. de la même levûre plus 0,25 c. c. de Sacch. ellipsoideus II, et dans chacun des deux ballons marqués *C*, 1 c. c. du même Sacch. cerevisiæ plus 0,25 c. c. de Sacch. Pastorianus III. La levûre employée était dans tous les cas assez épaisse et à peu près identique sous ce rapport; elle provenait de cultures à l'état de pureté faites dans les mêmes conditions et se composait de cellules jeunes et vigoureuses.

La fermentation principale, basse dans *A* et *B* et avec de faibles phénomènes de fermentation haute dans *C*, eut lieu à la température ordinaire d'un appartement, et la fermentation ultérieure, à 7° C., dans des ballons Pasteur bien remplis. Au bout de 3 mois environ, on transvasa la bière dans d'autres ballons stérilisés à deux cols, qui furent placés dans une armoire à la température ordinaire. Moins de 8 jours après, la bière de *B* et de C était fortement attaquée de la maladie désignée plus haut sous le nom de trouble de la levûre, tandis qu'au bout de 14 jours, celle de *A* était encore parfaitement saine. Par conséquent, l'une des trois levûres de la bière malade, à savoir le Sacch. cerevisiæ, donnait un produit qui pouvait se conserver lorsqu'elle était seule présente

dans le liquide en fermentation, mais la maladie se déclarait dès que l'une des deux autres espéces, n'importe laquelle, était mélangée avec la première dans la proportion indiquée.

La fermentation marchant très lentement dans les ballons Pasteur, j'ai répété l'expérience avec des bocaux cylindriques recouverts de papier à filtrer préalablement passé à travers une flamme. De cette manière, on opérait aussi dans des conditions qui se rapprochaient davantage de celles des brasseries. Des 6 bocaux employés, deux étaient marqués *A*, deux, *B* et deux, *C*, et ils renfermaient chacun 1300 c. c. du même moût stérilisé. On sema dans chacun des bocaux *A* 2,50 c. c. du Sacch. cerevisiæ ci-dessus mentionné, et dans chacun des bocaux *B* et *C*, 2 c. c. de la même levûre, plus 0,50 c. c. de Sacch. ellipsoideus II dans *B* et 0,50 c. c. de Sacch. Pastorianus III dans *C*.

Dans cette expérience, comme en général dans toutes les autres, on a eu soin de maintenir exactement *A*, *B* et *C* dans les mêmes conditions, sauf en ce qui concernait l'addition des différentes levûres sur l'action lesquelles il s'agissait de se prononcer. La fermentation principale, basse dans *A* et *B* et avec de faibles phénomènes de fermentation haute dans *C*, se fit à la température de 14—15° C. et dura 9 jours, après quoi la bière fut transvasée dans des bouteilles munies de bouchons en caoutchouc traversés par un tube recourbé qui descendait le long de leur paroi extérieure. Cette disposition avait pour but d'ouvrir à l'acide carbonique formé pendant la fermentation ultérieure une voie pour s'échapper, sans qu'on exposât en même temps le liquide à être infecté par les microorganismes du dehors. La fermentation ultérieure eut lieu à la température de 6—7° C., et, au bout de 2 mois, on transvasa la bière dans des bouteilles en verre incolore préalablement stérilisées.

Toute la bière ainsi obtenue était claire et il n'était pas possible, à l'œil nu, d'y observer de la levûre; mais après 24 heures d'exposition à la température ordinaire d'un appartement, la bière de *B* et de *C* présentait déjà des symptômes de la maladie. Celle-ci ne fit qu'augmenter de jour en jour, et le 12e jour la bière était pleine de levûre. La bière de *A*, au contraire, était encore parfaitement saine au bout de 15 jours.

J'ai obtenu les mêmes résultats en remplaçant, dans les expériences, le Sacch. cerevisiæ extrait de la bière malade par une culture pure du Sacch. cerevisiæ (levûre basse) employé dans la brasserie de Carlsberg.

Les expériences ayant ainsi montré que la maladie se déclare lorsque, à l'origine de la première fermentation, la levûre employée pour la mise en levain renferme une certaine proportion d'une des deux espèces ci-dessus mentionnées, la seconde question était de savoir comment ces ferments de maladie se comporteraient si on ne les introduisait dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale, par conséquent lorsqu'on la met dans les caves de garde.

Dans ce but, j'ai exécuté, à l'aide des ballons Pasteur, quelques expériences analogues aux précédentes. Dans une première série, les deux levûres de maladie ont été introduits au commencement et, dans

une seconde série correspondante, à la fin de la fermentation principale. Après la fermentation ultérieure, la bière soutirée des deux séries ne présentait pas trace de la maladie. Au bout de quelques jours, celle-ci se déclara comme auparavant dans la bière *B* et *C* de la première série, après qu'elle eut séjourné quelques jours dans la laboratoire; mais toute la bière de la seconde série n'en fut pas attaquée et resta claire comme la bière *A* de la première série.

Ces expériences nous donnent donc ce renseignement intéressant, que les deux ferments de maladie ne peuvent provoquer le trouble de la levûre lorsqu'ils ne sont introduits dans la bière qu'à la fin de la fermentation principale.

On pourrait peut-être être tenté d'en conclure qu'il est superflu de se donner tant de peine pour nettoyer et enduire de poix les tonneaux de garde. Je dois donc rappeler que le résultat ci-dessus ne concerne que les deux levûres avec lesquelles il a été expérimenté. Mais, comme mes recherches antérieures l'ont constaté, il peut apparaître dans les tonneaux de garde, outre ces deux formes, divers autres microorganismes qui sont en état de provoquer dans la bière des maladies tout aussi graves que celle qui nous occupe.

Pour soumettre le résultat qui précède à une épreuve faite dans les conditions de la pratique, j'ai répété la même expérience avec de la bière de garde ordinaire et de la bière d'exportation prises dans les caves de fermentation de la brasserie de Carlsberg au moment où, la fermentation principale étant terminée, elles devaient passer dans les caves de garde. De chacune de ces espèces de bière, je fis remplir 3 barils, *A*, *B*, *C*, chacun de $16^1/_2$ litres, après quoi je semai dans *B* 10 c. c. d'une levûre assez épaisse de Sacch. ellipsoideus II, et dans *C* 10 c. c. d'une levûre également assez épaisse de Sacch. Pastorianus III; mais les barils *A* ne furent pas infectés. La levûre du Sacch. ellipsoideus II et celle du Sacch. Pastorianus III avaient été produites dans des cultures au moût, à la même température que les cellules de Sacch. cerevisiæ contenues dans la bière. L'expérience ayant ainsi été mise en train, les 6 barils furent placés dans une des caves de garde de la brasserie, où on les laissa $2^1/_2$ mois, par conséquent un temps relativement très court en ce qui concerne la bière d'exportation. La température de la cave était de 2° C.

On procéda alors au soutirage dans des bouteilles préalablement stérilisées, et put constater que la bière de tous les barils *A*, *B* et *C* était cependant claire et sans le moindre trouble, comme une bonne bière marchande. Après avoir été exposées pendant 12 jours à la température ordinaire d'un appartement, aucune des bouteilles ne présentait de trace de la maladie. En un mot, la bière fortement infectée se conservait tout aussi bien que la bière non infectée. Le résultat était donc le même que dans les expériences en petit faites au laboratoire.

Dans des recherches comme celles-ci, dont le but est d'intervenir directement dans la pratique, il est naturellement à désirer que les expériences soient, autant que possible, disposées dans les conditions qui se trouvent réalisées dans une exploitation industrielle. Cela n'a pas souffert de difficulté quant à la question précédente. Mais il en

est tout autrement de la première question que nous avons examinée, à savoir celle de l'infection pratiquée au commencement de la fermentation principale. Il est évident que, quelque désirable que cela fût, on ne pouvait songer à entreprendre les expériences dans la brasserie elle-même, car, suivant toute vraisemblance, la maladie aurait gagné assez rapidement toutes les caves de fermentation et occasionné ainsi de grandes pertes. Toutefois, pour me rapprocher autant que possible de la pratique des brasseries, je résolus de refaire sur une plus grande échelle mes expériences de laboratoire, de manière que la bière fermentée mise en tonneaux pût prendre place dans la cave de garde de la brasserie. Je me proposais en outre, par ces nouvelles expériences, de me procurer des renseignements sur les quantités de ferments de maladie qui doivent se trouver dans la levûre de la mise en levain pour que la maladie puisse se déclarer, et enfin sur l'influence que pouvaient exercer une atténuation plus ou moins forte de la fermentation principale et un séjour plus ou moins long dans les caves de garde.

Voici un exemple des expériences que j'ai exécutées en ayant en vue ces différentes questions.

Dans une pièce du laboratoire de Carlsberg se trouvent deux cuves à fermentation Pasteur, *A* et *B* (une copie, sous quelques rapports améliorée, de la cuve décrite dans les „Études sur la bière", p. 328) de la même grandeur et du reste semblables. La température, dans ce local, était en janvier de 7—10° C. Après avoir versé dans chacune des cuves 165 litres de moût aéré (13,5 % Ball.), le même qui est employé dans la brasserie pour la bière de garde ordinaire, on introduisit dans la cuve *A* 660 grammes d'une levûre épaisse de Sacch. cerevisiæ (levûre basse de la brasserie), et dans la cuve *B*, 644 gr. de la même levûre plus 16 gr. d'une levûre épaisse de Sacch. ellipsoideus II. Cette dernière avait été produite à la même température que le Sacch. cerevisiæ employé; les cellules des deux epèces étaient jeunes et vigoureuses. Les quantités relatives de la levûre et du moût étaient celles qu'on emploie dans la brasserie. Le moût avait une température de 7° C. au moment de la mise en levain. La mousse blanchâtre qui indique le commencement de la fermentation se montra dans les deux cuves au bout de c. 24 heures, et dans le cours de la fermentation principale, la température s'y éleva à 10° C.

Au bout de 8 jours, la quantité d'extrait était dans *A* de 7,6 et, dans *B*, de 7,5 % Ball. Les deux bières avaient le même aspect et le même goût. De la bière de chaque cuve on remplit alors un baril de 66 litres qui fut ensuite descendu dans la cave de garde, dont la température était de 2° C.

On laissa la fermentation se poursuivre dans la bière qui restait dans les deux cuves, et après qu'elle eut duré en tout 10 jours, la quantité d'extrait était de 6,7 % Ball. tant dans *A* que dans *B*. La bière avait le même aspect et le même goût que l'avant-veille; elle fut soutirée dans 4 barils plus petits, dont 2 de chaque cuve, et descendue comme les premières portions dans la cave de garde.

La bière des deux gros barils, dont la quantité d'extrait, au commencement de l'enmagasinage, était de 7,5 % Ball. environ, en

renfermait, au bout de $2^1/_3$ mois, 6 % tant dans *A* que dans *B*. On la soutira dans des bouteilles de verre incolore préalablement stérilisées, qui furent ensuite exposées dans une armoire à la température ordinaire d'un appartement. Aussitôt après le soutirage, les deux bières ne présentaient aucune trace de trouble, mais déjà au bout de 24 heures, un examen attentif pouvait en faire découvrir un commencement dans *B*, et après 5 jours la maladie y était bien distincte, tandis que la bière de *A* restait claire sans trouble de la levûre.

Les 4 petits barils, dont la quantité d'extrait, à leur entrée dans la cave de garde, était de 6,7 %, en renfermaient 3 mois après 5,9 %. La bière de *A* et de *B* paraissait être identique; elle était claire et sans mélange apparent de levûre. Comme dans le cas précédent, on soutira la bière de deux de ces barils dans des bouteilles qui furent ensuite placées dans l'armoire ci-dessus mentionnée. La maladie ne se déclara pas. Au bout de 12 jours, la bière tant de *B* que de *A* était encore claire et sans trouble de la levûre.

Les deux derniers barils restèrent de $^1/_2$ mois de plus dans la cave de garde, par conséquent en tout $3^1/_2$ mois. L'analyse avec le saccharomètre donna la même quantité d'extrait que dans les deux barils précédents. Le résultat fut aussi le même: après 16 jours, on ne distinguait encore aucune trace de la maladie. Comme on pouvait s'y attendre, la bière était plus claire que dans les cas précédents à cause de son plus long séjour dans la cave de garde.

Cette série d'expériences nous apprend que la maladie peut encore se déclarer lorsque le Sacch. ellipsoideus II constitue $^1/_{41}$, de la levûre de la mise en levain, mais seulement si la bière est conduite dans la cave de garde avec une quantité d'extrait d'au moins 7,5 % Ball., et si l'enmagasinage, dans ces conditions, prend déjà fin au bout de $2^1/_3$ mois. Par contre, si la fermentation se poursuit dans la cave de fermentation de manière que la quantité d'extrait se réduise à 6,7 %, et si l'enmagasinage dure au moins 3 mois (par conséquent le temps normal), la maladie ne se déclarera pas.

On doit donc conseiller aux brasseries dans lesquelles cette maladie s'est glissée une atténuation suffisamment forte dans la fermentation principale, et un enmagasinage qui ne soit pas trop court (au moins 3 mois pour la bière de garde ordinaire). Mais si la levûre employée pour la mise en levain renferme une quantité considérable du ferment de maladie, cela ne sera pas même suffisant.

J'ai répété l'expérience en introduisant dans la cuve *B*, au lieu du Sacch. ellipsoideus II, la même proportion de Sacch. Pastorianus III. Le résultat principal a été le même; il semble cependant que, dans cette expérience comme dans quelques autres, le premier de ces ferments est le plus redoutable des deux.

Lorsque de la bière basse normale, fabriquée avec une culture pure de Sacch. cerevisiæ, reste exposée pendant longtemps en bouteilles à la température ordinaire d'un appartement, elle forme en général un dépôt de levûre assez abondant; mais, si on la secoue, elle ne devient pas cependant trouble et opaque. Ce dépôt se divise

en effet en petits grumeaux et fragments, sans que les cellules se séparent sensiblement les unes des autres pour flotter dans le liquide, et toutes ces petites parties retombent rapidement au fond. Tout autrement se comporte le dépôt qui, en très peu de temps, prend naissance dans la bière malade, car il est sans consistance et, à la moindre secousse, remonte dans le liquide sous forme d'un nuage de cellules isolées. Si la bière est attaquée à un haut degré et qu'on la secoue fortement, elle devient aussi comme toute boueuse. En d'autres termes, la bière saine peut bien former un dépôt de levûre tout aussi grand que la bière malade, sans cesser cependant pour cela d'être potable.

Si une brasserie qui a souffert de ce mal a repris son exploitation à l'aide d'un nettoyage à fond des caves de fermentation, et après s'être procuré une levûre de bonne qualité, elle doit veiller avec soin à ce que la maladie ne soit pas ramenée par la lie des tonneaux de garde.

Dans plusieurs brasseries on ne prend aucune précaution à cet égard. La lie se répand dans les cours et est apportée directement dans les caves de fermentation, surtout par les chaussures des ouvriers, ou bien elle se dessèche au dehors et le vent en emporte les poussières sur les bacs où refroidit le moût. De là, les ferments de maladie se glissent dans les cuves de fermentation, où ils commencent à se développer. Au début, cela marche bien très lentement de sorte qu'on ne remarque aucun danger, mais peu à peu les cellules s'accumulent, et à la fin la levûre servant à la mise en levain renferme assez de levûre spontanée pour que la maladie puisse se déclarer. A partir de ce moment, elle se développe avec une rapidité extraordinaire, et toute la bière de la brasserie est bientôt de nouveau attaquée. C'est à l'occasion de cas pareils que, dans le monde des brasseries, on peut souvent entendre parler de cette maladie momme de quelque chose de mystique. „Si elle vient, dit-on, il n'y a qu'à s'incliner; essayer de la combattre ne sert de rien, c'est un malheur contre lequel personne ne peut se défendre.“ On change alors sa levûre, et si la nouvelle levûre de la brasserie *A* n'aide pas, on s'adresse à *B*, etc. Mais qu'il faille chercher et combattre la cause du mal dans l'exploitation elle-même, c'est à quoi l'on pense rarement.

Des espèces autres que le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II peuvent sans doute aussi provoquer dans la bière le trouble de la levûre. Dans le 1er vol. 4e liv. p. 216 de se Compte-rendu, j'ai déjà émis l'opinion que l'espèce du groupe Pastorianus dont il y est parlé, était probablement du nombre. Il peut être bon de rappeler ici que le phénomène du trouble de la levûre se manifeste sous plusieurs formes. Sous ce nom est comprise toute une série de maladies différentes.

Le Sacch. Pastorianus mentionné en dernier lieu nous a également donné un exemple caractéristique du fait, que certaines espèces du genre Saccharomyces peuvent produire une bière d'un goût désagréable pour les connaisseurs.

Il s'en faut que le trouble de la bière soit toujours dû à des organismes. Assez général est, par ex., celui qui se produit lorsque

de la bière claire, après avoir été exposée à une basse température, devient opaline, intransparente, et ne recouvre sa clarté qu'après avoir été réchauffée. Ce phénomène, on l'explique ordinairement par la circonstance que, sous l'action du froid, il se sépare des substances protéiques qui se redissolvent lorsque la bière reprend sa température primitive, mais l'aspect opalin peut aussi provenir d'autres causes et se manifester sous d'autres formes. Il a été constaté, dans certains cas, qu'en ajoutant une assez petite quantité de Sacch. Pastorianus III à la levûre employée pour la mise en levain, on pouvait empêcher la bière de devenir opaline. Ainsi, tandis que de la bière fermentée à l'aide d'une culture pure de Sacch. cerevisiæ devint fortement opaline et resta telle, même après une exposition de plusieurs jours à la température ordinaire d'un appartement, la bière correspondante, qui était préparée de la même manière avec la seule différence que la levûre de la mise en levain avait été additionnée d'une petite portion de Sacch. Pastorianus III, était parfaitement claire aussitôt après le soutirage dans la cave de garde et continua à l'être. On doit donc supposer que, pendant la fermentation ultérieure, cette dernière levûre a fait disparaître les substances qui rendaient la première bière opaline. D'autres expériences ont au contraire montré que deux levûres qui, chacune prise à part, donnaient une bière claire, produisaient par leur mélange une bière opaline. Ces questions et d'autres analogues seront successivement soumises à un examen approfondi dans le laboratoire de Carlsberg.

Les espèces du genre Saccharomyces soulèvent en somme des problèmes d'une grande importance pour l'industrie des fermentations, et offrent sous ce rapport, au moins pour le moment, plus d'intérêt que les bactéries; mais tout ce domaine est resté jusqu'à présent comme un pays presque entièrement inconnu.

Développemet et constitution de l'endosperme de l'orge.

Études anatomiques préliminaires sur la question des grains tendres.

Par

W. Johannsen.

Ces recherches n'ont porté que sur les espèces d'orge cultivées qui, dans tous les points essentiels, présentent entre elles une grande conformité. Comme matériaux, j'ai sur tout employé le Hordeum distichon; les figures sont dessinées d'après cette espèce à moins qu'une autre ne soit indiquée.[1])

Pour les préparations microscopiques de jeunes fruits, je me suis presque toujours servi de procédé de M. Strasburger: durcissement dans l'alcool absolu et traitement subséquent par la glycérine et l'alcool. Les réactifs employés, sauf mention contraire, ont été préparés d'après les indications de M. V. A. Poulsen, Microchimie végétale, Paris 1882.

L'ovaire de l'orge, comme celui des autres graminées, ne renferme qu'un ovule, qui est adhérent au côté de l'ovaire (ventral ou du sillon), qui regarde la paillette supérieure. Il n'y a donc pas de funicule proprement dit; l'ovule sessile est fixé à la paroi de l'ovaire par une ligne d'attache assez longue. Toute la partie de l'ovaire située au-dessus de la cavité ovarienne est dépourvue de chlorophylle, et garnie de nombreux poils raides, pointus, à une ou plusieurs cellules et souvent ramifiés qui la font paraître d'une blancheur éclatante, tandis que la partie de l'ovaire qui entoure la cavité ovarienne est verdâtre, par suite de la présence de quelques couches de cellules du parenchyme interne qui renferment de la chlorophylle. Ces cellules sont surtout accumulées des deux côtés de la suture ventrale et tout près de celle-ci, et c'est pourquoi cette suture paraît à l'œil nu vert foncé dans une coupe transversale, bien qu'elle soit elle-même incolore. La partie supérieure de l'ovaire est divisée par une dépression en deux parties, dont celle qui regarde la paillette

[1]) Relativement aus ouvrages dont je me suis servi, je dois me référer au texte danois; je n'indiquerai ici que les principaux.

supérieure est beaucoup plus haute que l'antérieure (comp. Pl. I, Fig. 1), et se divise à son tour en deux lobes, l'un à droite et l'autre à gauche, qui forment chacun un vigoureux stigmate couvert de poils pennés (comp. Fig. 2). Entre les deux parties ci-dessus mentionnées, une fente ou un canal étroit descend verticalement dans l'ovaire (Fig. 1) presque jusqu'à la cavité ovarienne.

L'ovaire est traversé de bas en haut par quartre faisceaux, dont l'un dans la partie dorsale, vis-à-vis de la suture ventrale et un peu au-dessous d'une faible sinnosité de l'ovaire (Pl. I, Fig. 3 a); les deux suivants sont situés sur les côtés de l'ovaire et vont se perdre dans les stigmates (Plan I, Fig. 2 a, Fig. 3 b, c), tandis que le premier ne monte pas si haut. Le quatrième, qui est le plus fort et présente des vaisseaux bien distincts, suit la suture ventrale en dehors de la ligne d'attache de l'ovule et parallèlement à cette ligne (Fig. 3 d). En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie arrondie et formée de petites cellules (Fig. 3 e), d'où les deus téguments de l'ovule, l'épiderme du nucelle et l'épiderme de la cavité ovarienne tirent leur origine.

L'ovule est un peu recourbé en S. En effet si, sur une coupe longitudinale (Fig. 1), on part de la ligne d'attache, il s'élève d'abord, s'infléchit ensuite vers le bas et enfin vers le côté opposé de la chalaze, le micropyle étant tourné en dehors[1]). Du sommet de l'ovule les deux téguments forment une pointe qui pénètre bien avant dans le tissu conducteur venant des stigmates (Fig. 1 et 2). Chaque tégument se compose de deux couches de cellules; cependant ils en renferment un plus grand nombre dans la pointe ci-dessus mentionnée et près du micropyle, où le tégument externe présente une grande ouverture, tandis que le tégument interne n'a qu'une petite fente (Fig. 1 m). Dans cette partie supérieure dont il vient d'être question, on ne voyait pas distinctement comment se comportaient les couches du tégument externe; la couche extérieure du tégument interne ne semblait pas s'être devisée (comp. Pl. I, Fig. 11). On trouve des caractères correspondants chez le seigle; ils sont indistincts chez le froment.

Dans l'ovaire développé, le tégument externe, déjà avant la pollinisation, est très mou et ses cellules claires, à parois minces, sont en partie vides. Il semble que ce tégument sarve à conduire le tube pollinique après qu'il a atteint la cavité ovarienne[2]). Les tissus conducteurs proprement dits descendent, en se rapprochant l'un de l'autre, des stigmates dans l'intérieur des parties qui portent ces derniers (comp. Fig. 2). Les deux tissus conducteurs se rencontrent encore dans la région postérieure de la partie supérieure de l'ovaire (comp. Fig. 1), et s'avancent ensuite ensemble vers la cavité ovarienne en

---

[1]) Cfr. Hofmeister: Neue Beiträge z. Kenntniss d. Embryoentwickelung der Phanerogamen. II Monocotyledonen (Abhdl. d. k. sachs. Gesellschaft d. Wissenschaften Bd. VII p. 651) et Payer: Organogénie de la fleur. Paris 1857 p. 703.

[2]) Holzner, Botan. Centralblatt Bd. 12, 1882, p. 107.

passant successivement dans la région antérieure de l'ovaire. La petite fente mentionnée plus haut n'est ainsi entourée à sa base que de tissu conducteur et devient ainsi moins distincte. Les cellules de ce tissu sont étroites, molles, tres allongées, à parois minces et sans trace d'amidon; à un examen superficiel, elles cachent facilement la pointe des téguments.

Avant la fécondation, on trouve dans le sac embryonnaire une vésicule embryonnaire et deux synergides assez petits et à contours un peu vagues (Fig. 12 e & s); le noyau central est distinct de même que les antipodes (Fig. 12, a), qui se développent plus vite que les cellules sexuelles; il y en a au moins six. Après la fécondation, peut-être déjà avant, les antipodes commencent à se diviser rapidement et le nombre des noyaux augmente beaucoup; j'en ai compté 31 et peut-être y en a-t-il davantage. En même temps, le sac embryonnaire s'élargit considérablement; il croît d'abord plus d'un côté que de l'autre, comme c'est surtout le côté tourné vers la partie dorsale de l'ovaire qui s'allonge fortement en se courbant (Pl. I, Fig. 9, 10). Par suite, les antipodes se trouvent transportés sur le côté du sac embryonnaire vers le sillon.

L'endosperme commence alors à se former. Je n'ai jamais réussi à observer la division du noyau central, mais n'ai aucune raison de douter que les indications générales de M. Strasburger se confirment également ici. Le noyau central doit, par des divisions rapides et successives, donner naissance à un grand nombre de noyaux filles. Ceux-ci sont logés dans le protoplasme et tapissent la paroi interne du sac embryonnaire; les antipodes et les cellules sexuelles restent cependant entre cette paroi et le jeune endosperme. L'ovaire a alors une longueur de 3,5 millimètres environ. La Fig. 3, Pl. I, représente une coupe transversale d'un pareil grain passant par le milieu de la cavité ovarienne, et la Fig. 8, une partie de cette coupe avec un plus fort grossissement. La paroi de l'ovaire[1]) se compose ici des couches de cellules suivantes: l'épiderme, un parenchyme incolore qui renferme de petits grains d'amidon, deux (çà et là, surtout dans le voisinage de la suture ventrale, 3 ou davantage) chouches de cellules chlorophyliennes allongées en travers et enfin l'épiderme de la cavité ovarienne. Puis vient le tégument externe qui maintenant est dépéri et en pertie disparu. Par contre, les cellules du tégement interne, de même que celles de l'épiderme du nucelle, sont encore riches en protoplasme et renferment des noyaux relativement gros. En dedans de cet épiderme, on voit le reste à demi déplacé du nucelle et au fond les jeunes noyaux de l'endosperme. Toutes les parties de l'ovule, y compris les téguments et son point d'attache, sont entièrement dépourvues de grains d'amidon.

Une coupe longitudinale correspondante donne une image un peu différente. Les cellules incolores du parenchyme apparaissent

---

[1]) Comp. aussi: Kudelka, „Entwickelung u. Bau d. Frucht u. Samenschale unserer Cerealien", Berlin, 1875, et Grønlund „Om Melbyg og Glasbyg", Kjøbenhavn 1879, p. 29—32.

avec des parois assez droites; elles sont disposées en rangées longitudinales et sont un peu allongées dans le sens de la longueur de l'ovaire. Les cellules de chlorophylle paraissent par contre presque rondes. Il n'y a pas grande différence entre les coupes longitudinale et transversale des autres couches de cellules. Les noyaux de l'endosperme présentent la même image dans les deux sens.

Les cellules du parenchyme dans la paroi de l'ovaire sont, dans la phase représentée Fig. 3, beaucoup plus grandes qu'avant la fécondation et ont entre elles un peu moins de cohérence. Les cellules de chlorophylle sont également plus grandes qu'auparavant. Le tégument externe est bien plus dépéri et le faisceau vasculaire dans la suture ventrale, plus fort qu'avant la fécondation.

Si, à l'aide d'une aiguille, on étend une partie du revêtement du sac embryonnaire dans une goutte de glycérine (Plan I, Fig. 16), on voit qui la grandeur des noyaux de l'endosperme et leur distcnce mutuelle diminuent d'autant plus qu'ils sont plus voisins des antipodes (Fig. 16 a). C'est donc dans le voisinage de ces derniers que la division des noyaux de l'endosperme est le plus avancée, et c'est aussi là, par conséquent hors de la suture ventrale, que les parois des cellules se forment le plus tôt.

Pendant que le sac embryonnaire déplace de plus en plus le nucelle, le jeune endosperme poursuit son développement. L'ovaire croît en même temps, surtout en longueur (hauteur)[1]), les cellules, sauf celles des couches à chlorophylle, s'allongeant beaucoup dans cette direction.

A l'aide d'une aiguille, on peut facilement étendre dans la glycérine de grandes lamelles du jeune endosperme, et observer les différentes phases de la formation des parois des cellules. Mes observations ont toujours concordé avec les indications générales de M. Strasburger. Après la formation de leurs parois, les jeunes cellules commencent à s'allonger dans le sens radial vers la cavité du sac embryonnaire.

La Fig. 13, Pl. I, est une coupe transversale de l'endosperme d'un grain long de 4,5 millim. environ. On voit tout de suite que c'est sur le côté ventral (f), où il est en contact avec les antipodes, maintenant à moitié résorbés et non représentés sur la figure, que l'endosperme est le plus développé. La Fig. 14 montre une petite partie de la même coupe avec un plus fort grossissement. Les parois sont très minces et un peu crêpées (l'action de l'alcool). Les formes allongées des noyaux indiquent de prochaines divisions; la Fig. 17 reproduit différentes phases de la division. La jonction dite „Verbindungsfaden“ ne forme pas ici la figure ordinaire ressemblant à un tonneau.

Pendant que l'ovaire croît toujours en longueur et peu seulement en volume, le sac embryonnaire est complètement rempli par l'endosperme. La rencontre en son milieu des cellules du côté dorsal et

---

[1]) Holzner „Die Gerste“ (Der bayrische Bierbrauer, 1876, p. 200) indique plusieurs mesures qui s'accordent avec celle-là.

du côté ventral détermine la formation d'une ligne de soudure bien distincte (comp. Pl. II, Fig. 1). La partie voisine de la suture ventrale (en f) est constamment la plus développé; déjà en ce point — la longueur du grain est de 5 à 5,5 millimètres environ — la couche de cellules extérieure de l'endosperme a commencé à se différencier, elle est remplie de matière protéique et on n'y aperçoit que très indistinctement des cordons de protoplasme. Il n'y a encore pas trace d'amidon dans l'endosperme, et ce n'est qu'après plusieurs divisions de cellules qui semblent s'opérer simultanément dans l'endosperme tout entier que cette substance fait son apparition.

Le grain est alors long de 6 à 7 millim. et a commencé à croître un peu plus en volume. La Fig. 3, Pl. II, représente une coupe transversale de l'endosperme dans cette phase. La ligne de soudure est encore distincte, mais disparaît plus tard. Les grains d'amidon apparaissent d'abord dans les parties supérieures de l'endosperme, toutefois pas au sommet, à la pointe du grain. La coupe, qui passe un peu au-dessus du centre du grain, montre où prennent naissance les premiers grains d'amidon, à savoir autour de la ligne de soudure, au milieu des deux demi-longueurs du grain et dans deux parties voisines du côté ventral. On ne rencontre jamais d'amidon dans la couche extérieure de l'endosperme, mais, outre son riche contenu en protoplasme, on y trouve déjà dans cette phase un peu de matiére grasse.

La Fig. 5, Pl. II, reproduit avec un plus fort grossissement une partie de la Fig. 3. De la couche extérieure (o), dont le contenu est très abondant, dérivent les cellules à parois épaisses et sans amidon, qui sont disposées en trois rangées. Dans les cellules voisines de la ligne de soudure, qui limite la figure vers le bas, on aperçoit de petits grains dans le protoplasme qui entoure le noyau et dans les parties contiguës. L'iode[1]) ne les colore que faiblement en un bleu peu distinct. Mais si l'on emploie du chlorure de zinc iodé, les petits grains se gonflent et se colorent fortement en brun noir. La Fig. 6, Pl. II, représente quelques cellules traitées par ce réactif. Immédiatement avant que la présence de l'amidon puisse être constatée à l'aide du chlorure de zinc iodé ou de la potasse et de l'iode, le protoplasme qui entoure le noyau de la cellule est faiblement grumeleux; on a peut-être dans ces gruaux les „Stärkebildner" de Schimper sous une forme très indistincte.

Après que l'amidon a commencé à se former dans une cellule de l'endosperme, il ne semble pas que celle-ci se divise davantage; du moins je n'ai trouvé de l'amidon dans aucune cellule de l'endosperme en train de se diviser. Par contre, les divisions se pour-

[1]) La dissolution d'iode employée a été préparée comme il suit: à 1 partis d'iode dissoute dans 20 parties d'alcool, on ajoute 80 parties d'eau et, après 1/2 heure de repos, on filtre pour séparer l'iode qui s'est précipité. Une pareille dissolution faible d'iode est souvent à préférer à une plus forte, la coloration étant beaucoup plus égale.



suivent dans les cellules qui ne renferment pas de l'amidon, surtout dans le rayon périphérique de l'endosperme.

La Fig. 7 b, Pl. III, est une coupe transversale d'un grain long de 8,5 millim. environ. En la comparant avec Fig. 7 a, on constate que ce grain a aussi beaucoup grossi. La Fig. 8, Pl. II, montre, avec un fort grossissement, une partie d'une coupe transversale d'un grain ayant 8,5 millim. de long. On voit immédiatement que la couche de cellules extérieure de l'endosperme (Fig. 5, o) s'est, par des cloisons tant tangentielles que radiales, divisée en plusieurs cellules remplies d'un contenu grumeleux. La Fig. 10 fait voir les mêmes cellules telles qu'elles se présentent dans une coupe tangentielle. Dans ce sens, elles sont disposées d'une manière très irrégulière, tandis qu'en coupe transversale et surtout en coupe longitudinale, leur arrangement est plus régulier. Elles renferment maintenant une grande quantité de substances grasses et protéiques; cependant on n'y distingue pas encore clairement des grains d'aleurone.

En dedans de ces cellules viennent les cellules amylifères. C'est vers l'intérieur de l'endosperme que se trouvent les grains d'amidon les plus âgés et les plus gros, et vers la périphérie, les plus jeunes et les plus petits. Ils sont oblongs et de forme un peu irrégulière, tandis que dans l'endosperme complètement développé ils ont une forme lenticulaire assez régulière. Les très petits grains que, dans l'endosperme tout développé, on rencontre entre les gros grains d'amidon, n'existent pas encore. Les noyaux des cellules sont maintenant trés distincts. Les cordons du protoplasme ne se voient pas distinctement sans une préparation speciale (coloration); mais si, dans une coupe, on enlève l'amidon à l'aide de l'acide azotique étendu (env. 10 %), on reconnaît facilement que tous les grains d'amidon sont logés dans le protoplasme. Les parois inclinées en dedans des cellules de l'endosperme ne suivent pas sur la figure une direction exactement radiale à partier de la périphérie. Elle reproduit en effet une partie prise sur le côté de l'ovaire et où ces parois, par suite de la croissance non homogène de l'endosperme et du renflement qui en résulte, ont été un peu rejetées hors de leur direction primitive. Mais les Fig. 5, Pl. II, et 1, Plan III, sont dessinées d'après des parties prises sur le dos du grain, et la direction primitive y est conservée.

La Fig. 9, Pl. II, est une coupe transversale de la paroi de l'ovaire, correspondant à l'endosperme de la Fig. 8. Elle représente une partie peu éloignée de la suture ventrale. Les cellules de l'épiderme ont des parois plus épaisses qu'auparavant (comp. Pl. I, Fig. 8) et se sont allongées dans le sens tangentiel. Le parenchyme incolore est devenu beaucoup plus lâche, et ses cellules se sont aussi accrues dans le même sens pendant le grossissement du grain. Une partie des cellules intérieures du parenchyme sont maintenant complètement affaissées, tandis que les cellules vertes sont encore bien remplies; la figure en montre trois couches. L'épiderme intérieur et le tégument ont disparu ou presque disparu. Le tégument interne est encore distinct, de même que les cellules de l'épiderme du nucelle dont le nombre a beaucoup augmenté. Le nucelle lui-même est entièrement refoulé par l'endosperme, excepté tout près de la ligne d'attache.

Sur le côté dorsal du grain, toute la paroi de l'ovaire est bien plus comprimée que dans la figure.

Sur les coupes longitudinales, toutes les cellules de la paroi de l'ovaire, à l'exception des vertes, sont extrêmement allongées dans le sens du grand axe du fruit. Les cellules vertes se sont peut-être divisées. Dans cette phase, tout le fruit est plus fortement coloré en vert qu'auparavant, car les cellules à chlorophylle rayonnent maintenant plus facilement à travers le parenchyme incolore, mince et transparent. Les paillettes commencent à s'attacher an fruit lui-même.

La Fig. 7, Pl. II, est une coupe longitudinale du grain entier dans la même phase. L'embryon est loin d'être développé et doit encore refouler une grande partie de l'endosperme.

Après la phase qui vient d'être décrite, dans laquelle le grain entier renferme environ 70 % d'eau et l'endosperme se présente sous forme d'un mucilage laiteux et épais, le grain s'allonge bien encore un peu, mais croît surtout en volume, notamment au milieu. Par suite d'une croissance moins rapide dans la partie voisine de la suture ventrale[1]), l'endosperme s'infléchit de manière que sa coupe transversale se rapproche de la forme d'un fer à cheval qui, plus tard, divient de plus en plus réniforme. En même temps, les cellules se remplissent toujours davantage de réserves.

Lorsque le grain a une longueur de 9 millim. environ, qu'il renferme env. 52 % d'eau et se présente en coupe transversale comme la Fig. 7 e, Pl. III, la chlorophylle a commencé à s'altérer dans les cellules de la paroi de l'ovaire. Les cellules ont un contenu plus jaunâtre, excepté des deux côtés de la suture ventrale, où la couleur verte se maintient le plus longtemps. Dans la phase représentée Fig. 7 f, où le grain renferme 40 % environ de son poids d'eau, on voit encore à droite et à gauche de la suture des taches vert olive.

Lorsque le grain est complètement développé au point de vue anatomique, on n'y trouve plus de chlorophylle; la proportion d'eau est de 30 % environ, et l'endosperme a une consistance molle, céroïde et un peu tenace. La Fig. 7 g représente une coupe transversale d'un pareil grain, et l'on voit que le sillon apparaît ici comme une ligne fine qui va jusqu'au milieu de l'endosperme. Le grain a maintenant une longueur de 9 à 9,5 millim.[2]). Cette phase est en général désignée sous le nom de „maturité jaune" („Gelbreife"). Toutes les feuilles sont flétries, les tiges sont jaunes ou fauves, avec des nœuds d'un vert olive sale, et le plus souvent complètement desséchées dans la partie supérieure voisine de l'épi. Les arêtes sont également jaunes ou fauves. La paroi de l'ovaire est très comprimée

---

[1]) On a relevé plus haut (p. 63) que c'est dans le voisinage de la suture ventrale que le développement de l'endosperme était le plus avancé. Ce fait est sans doute en connexion avec cet autre, que la croissance se ralentit aussi plus tôt dans la même région.

[2]) Ces mesures, de même que les précédentes, ne sont que des moyennes approximatives; on trouve en effet beaucoup de grains mûrs plus petits et plus gros.



et adhérente aux paillettes d'un beau jaune, qui souvent encore ont un reflet rougeâtre. A partir de ce moment, le grain ne croît pas davantage, mais semble être entièrement achevé. Tout apport de substance au grain doit également avoir cessé, et il ne manque plus que le dessèchement nécessaire et les processus qui l'accompagnent pour qu'il soit complètement mûr. Anatomiquement parlant, on peut affirmer qu'il ne survient aucun changement après „la maturité jaune". On ne saurait, à priori, en dire autant au point de vue chimique ou physiologique; mais l'examen de cette importante question n'entre pas dans le cadre de ces études préliminaires.

Le grain d'orge complètement développé et desséché à l'air se compose d'un embryon, d'un endosperme et d'une enveloppe. Cette dernière, comme on sait, comprend le péricarpe, l'enveloppe séminale et (à l'exception des orges nues) les deux paillettes, qui adhèrent assez fortement au fruit.

La Fig. 3, Pl. III, est une coupe transversale de l'enveloppe du côté dorsal du grain après le traitement par la dissolution de chlorure de zinc (60 % env.). Près du sillon, sur le côté ventral du grain l'enveloppe n'est pas aussi comprimée qu'ailleurs.

En coupe transversale, la ligne d'attache apparaît comme une partie un peu arrondie, d'un brun foncé, d'où le tégument interne, en général aussi coloré, et l'épiderme du nucelle tirent leur origine. De cette ligne d'attache, qui, vue en coupe longitudinale, se présente comme une longue raie sombre („Pigmentstrang") rayonnent vers l'endosperme quelques files de cellules allongées, vides, en partie affaissées, qui sont à considérer comme des restes du nucelle (Pl. III, Fig. 6 et 6 a). Ces deux figures reproduisent le sillon en entier ou en partie, tel qu'il se montre dans la coupe transversale du grain mûr entièrement développé (comp. Pl. III, Fig. 7 g) et du grain encore vert et un peu moins développé (comp. Pl. III, Fig. 7 e et f). Sur la Fig. 6, on voit dans ce dernier, entre le reste du nucelle et l'endosperme, une grande cavité[1]) qui se forme déjà dans des phases bien antérieures. On voit également que l'enveloppe et le reste du nucelle, près du sillon, ne pénètrent pas profondément dans le grain, comme chez le seigle et le froment, mais demeurent presque en dehors. La ligne étroite qui, dans la coupe transversale du grain mûr, aboutit environ au milieu de l'endosperme, n'est donc, dans le grain d'orge, que la limite entre les deux parties qui viennent se rejoindre du côté ventral infléchi de l'endosperme[2]). Le long de cette limite,

---

[1]) M. Novacki. après avoir mentionné la formation d'une pareille cavité chez le grain de froment, dit que par là se trouve rompu le pont par lequel passent les substances servant à l'alimentation de l'endosperme. Cela n'est pas exact; M. Novacki n'a pas tenu compte du rôle de l'osmose dans le transport des matières nutritives, et a oublié que l'endosperme n'a jamais été en liaison organique avec le reste du nucelle.

[2]) Cette indication est en opposition avec celle de M. Kudelka: „Zur Zeit der Vollreife reicht eine schmale Parthie des Fibrovasalstranges

les couches extérieures des cellules de l'endosperme ont des formes très irrégulières et des parois épaisses, et sont en partie vides.

L'embryon, dans ce qui précède, a été presque complètement laissé de côté. M. Nörner[1]) a décrit (Hord. vulg.) les premières phase de son développement. Mes observations s'accordent avec les siennes. M. Holzner dépeint brièvement son développement ultérieur, la formation de ses organes et donne de bonnes figures schématiques.

Lorsque le fruit est encore tout jeune, le petit embryon croit au sein de l'endosperme mou et en est presque complètement enveloppé. Pendant que l'embryon, en croissant, épuise et refoule peu à peu les cellules les plus voisines, les parois de cellis-ci, en tant qu'elles ne sont pas dissoutes, s'amoncellent les une sur les autres et finissent par former une couche assez épaisse qui sépare de l'embryon les cellules amylifères de l'endosperme. Les cellules non amylifères de l'endosperme entourent au contraire, mais seulement dans une seule couche, la partie supérieure de l'embryon; elles diviennent de plus en plus petites et disparaissent à la fin complètement. La Fig. 2, Pl. III, est trop petite pour qu'on puisse la voir; mais je puis me référer à M. Lintner: Lehrbuch der Bierbrauerei Braunschweig 1885, p. 25 et 31, Fig. 5 et 8, dessins qu'on trouve aussi chez M. Holzner l. c. M. Kudelka (l. c. p. 11) donne la même indication.

La partie clypéiforme de l'embryon contiguë aux cellules comprimées et vides de l'endosperme est le cotylédon (Warming), qui se distingue par son épiderme particulier. Il y a 4—6 radicules, toutes enfermées dans la coléorrhize, qu'elle percent lors de la germination. La gemmule est formée de plusieurs jeunes feuilles qui se recouvrent les unes les autres en forme de cornet. L'embryon ne renferme pas d'amidon, mais est riche en substances grasses et protéiques.

L'endosperme contient comme réserves surtout des hydrates de carbone et des substances grasses et protéiques. L'amidon et la cellulose sont les seuls hydrates de carbone qu'on ne puisse reconnaître au microscope.

Les substances protéiques sont répandues dans tout l'endosperme; dans les cellules amylifères, elles constituent la partie principale du „réseau“ où les grains d'amidon sont logés. Ce réseau a sa plus grande épaisseur dans les cellules voisines de la périphérie de l'endosperme et dans sa partie supérieure; il est beaucoup plus mince dans les cellules plus profondément situées.

Les substances grasses ne se trouvent en grande quantité que dans les trois couches extérieures de l'endosperme, qui ont aussi des parois très épaisses dont la cellulose se dissout en majeure partie

---

(il entend sans doute par là le faisceau fibro-vasculaire, la ligne d'attache et le reste du nucelle) bis in die Mitte des Kornes, und es umgeben ihn stark verdickte Kleberzellen“. M. Holzner dit que quelques cellules dues à une formation cellulaire libre doivent se produire dans la cavité dont il s'agit. Je n'ai jamais rien vu de pareil.

[1]) Flora 1881, No. 16.

pendant la germination et sert sans doute ainsi comme réserve. Les cellules contenant des substances grasses ne sont pas amylifères, mais renferment des grains d'aleurone.

La Fig. 1, Pl. III, est une coupe transversale de la partie dorsale du grain et représente un fragment de l'endosperme. La préparation, qui provient d'un grain dur et sec, a été traitée par une dissolution bien fluide de baume de Canada dans le chloroforme, et n'est par suite que peu gonflée; son aspect répond à peu près à celui de l'endosperme desséché à l'air. Les parois des cellules se montrent surtout racornies.

Dans le haut de la figure, on voit les cellules oléifères[1]); dans l'une d'elles, on a, outre le noyau, reproduit quelques petits corps ronds. La Fig. 4 fait voir ces cellules dans une coupe tangentielle passant par la partie dorsale du grain; vues ainsi, elles n'ont ni forme ni disposition régulière.

Relativement au contenu de ces cellules, on trouve plusieurs indications anciennes et nouvelles, dont nous citerons les principales. M. Hartig[2]) dit de l'endosperme des céréales que la couche de cellules extérieure sans exception ne renferme que du „Klebermehl" à grains fins, et indique en même temps (l. c. p. 121) que les grains de protéine des céréales restent longtemps dans l'eau sans se dissoudre, ce qui doit beaucoup faciliter l'observation.

M. S. L. Schenk[3]) a fait une recherche spéciale sur les cellules non amylifères de l'endosperme du froment, et trouvé qu'elles ne renferment pas beaucoup de protéine. Le réactif de Millon n'en colore pas le contenu, tandis que les cellules amylifères se colorent très fortement. M. Schenk appelle avec raison l'attention sur l'insuffisance de la réaction de l'iode pour constater la présence des substances protéiques. Suivant lui, les petits grains réfringents qu'on trouve dans les cellules sont insolubles dans les acides étendus et le suc gastrique artificiel, et ne peuvent par conséquent se composer de protéine („Kleber"). Les réactifs essayés pour décéler différentes autres substances ont donné un résultat négatif.

Chose singulière, la richesse des cellules en matières grasses a échappé à l'attention de M. Schenk, bien qu'elle ait été mentionnée par plusieurs auteurs, entre autres par M. Sachs et, avant lui, par MM. Payen et Trecul.

En examinant dans de l'eau des coupes d'un grain d'orge mûr (gelbreif) traité depuis longtemps par l'alcool, j'ai observé dans les cellules susmentionnées un réseau protoplasmatique ou systéme de cavités bien distinct. Les petits grains réfringents étant, d'après M. Schenk,

---

[1]) Le nom allemand „Kleberzellen" est une combinaison très peu heureuse de la dénomination „Klebermehl" (grains d'aleurone) de M. Hartig et du mot „Zellen". Les cellules en question n'ont rien de commun avec le „Kleber" (gluten). Cette substance est un produit qu'on extrait de la farine du froment.

[2]) Entwichelung des Pflanzenkeims 1858.

[3]) Anatomisch-physiologische Untersuchungen, Wien 1872, p. 3.

insolubles dans les dissolvants ordinaires des substances protéiques, il était à supposer que les cavités avaient renfermé des globules ou des gouttes de graisse qui s'étaient dissoutes dans l'alcool. En soumettant au même examen des coupes d'endosperme desséché, on observe dans les cellules non amylifères, outre de grosses gouttes huileuses, un certain nombre de petits corps ronds très réfringents et de grosseur peu variable.

Ce sont ces corps qui, en général, passent pour être des grains de protéine; mais comme ils sont colorés en brun noir par l'acide osmique et ne se colorent que lentement en jaune par la dissolution d'iode, il en résulte qu'ils sont formés de matière grasse. Ce sont évidemment ces corps que M. Schenk a vus et qu'il a déclaré avec raison ne pas être de nature protéique. Outre ces globules de graisse, j'ai constaté la présence de fragments d'un réseau protéique à mailles fines qui tantôt est coloré par l'acide osmique et tantôt pas.

En observant les préparations dans de la glycérine concentrée ou iodée, il est difficile de décider si les petits grains réfringents qu'on voit alors sont des grains d'aleurone ou des globules de graisse, et comme des grains d'àleurone facilement solubles ont été confondus avec des gouttes d'huile, j'ai emqloyé la méthode de M. Pfeffer[1]), qui passe pour être à l'abri de cette erreur. D'ailleurs, ainssi qu'il a été dit plus haut, M. Hartig considère les grains d'aleurone des Graminées comme appartenant aux grains les plus résistans. Des coupes tangentielles faites à sec de grains d'orge, de froment et de seigle (on obtient ainsi de plus grandes lamelles formées seulement des cellules dont il s'agit) restèrent plusieurs jours dans une dissolution à 2 % de bichlorure de mercure dans l'alcool absolu, traitement après lequel les grains d'aleurone même les plus facilement solubles, doivent être insolubles dans l'eau. Les préparations furent ensuite, comme le recommande M. Pfeffer, mises directement dans de l'eau et examinées dans de la glycérine, en général après avoir été colorées avec la dissolution d'iode ou le bleu d'aniline. On n'y découvrit jamais qu'un réseau plus ou moins régulier sans grains (Fig. 4, b).

Si les préparations sont de nouveau traitées par l'alcool, puis par l'éther et qu'on achève de les sécher à une douce chaleur artificielle, on peut, en les recouvrant d'une glycérine épaisse et en se débarrassant avec une aiguille des grosses bulles d'air qui se forment au-dessus de la préparation, observer de petites bulles d'air rondes et sombres dans les nombreuses petites cavités (Fig. 4, c), qui par conséquent doivent avoir été vides. Il était donc très vraisemblable que, dans les cellules non amylifères de l'endosperme, il n'y avait pas des grains d'aleurone mais des globules de graisse logés dans un réseau protéique.[2])

Mais en préparant des coupes de grains d'orge secs pour les mettre dans du baume de Canada, j'observai que les petits grains

---

[1]) Pfeffer: Untersuchungen über die Proteinkörner, Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Botanik, Bd. 8, 1872, p. 440—441, 445.

[2]) Confr. Bot. Centralblatt, 1883, Bd. 15, p. 305.

réfringents n'étaient pas solubles dans le chloroforme. De pareilles coupes, qui avaient séjourné quelque temps dans du chloroforme ou du benzol ($C_6 H_6$), laissaient voir distinctement des grains logés dans un léger réseau (Fig. 4, d) après avoir été mis dans du baume de Canada. Je m'assurai que ce n'étaient pas des cavités en séchant à une douce chaleur artificielle les coupes traitées par le chloroforme, et en les mettant dans de la glycérine, et ne découvris alors pas autre chose que des fentes fines, irrégulières et remplies d'air entre les petits grains ronds, fentes dues sans doute à la contraction du réseau appauvri par le départ de la matière grasse.

Les grains ainsi observés ne pouvant être ni une matière grasse ni de l'amidon, doivent donc être des grains d'aleurone. Les indications de MM. Hartig et Schenk ne concernent pas par conséquent les grains d'aleurone, mais les petites gouttes de matière grasse qui doivent se séparer du réseau lorsqu'on le traite par des liquides aqueux.

Les grains d'aleurone, chez l'orge, le seigle et le froment sont par contre très fortement influencés par l'eau malgré l'action de l'alcool mercuré, et, en se gonflant, donnent au contenu des cellules l'aspect d'un réseau dont les vides sont les vacuoles des grains d'aleurone, et dont les cloisons sont formées par la fusion de la masse mitoyenne vide de matière grasse avec les couches extérieures de ces grains. L'alcool mercuré ne se borne pas à enlever la matière grasse, mais empêche aussi la destruction du contenu des cellules d'aller plus loin qu'il ne vient d'être dit, tandis que ce contenu, dans les coupes non durcies, est rendu très indistinct par l'influence de l'eau et le départ des gouttes de matière grasse.

Les trois couches de cellules extérieures non amylifères de l'endosperme contiennent donc des grains d'aleurone peu résistants logés dans une masse fondamentale protoplasmatique riche en matières grasses. Les noyaux sont très distincts. Les parois sont épaisses et renferment une assez grande quantité de cellulose. Chez le seigle et le froment, la couche de cellules extérieure de l'endosperme est identique avec les trois de l'orge.

En dedans de ces trois couches de cellules se trouvent les cellules amylifères de l'endosperme, dont les premières sont plus petites et ont des parois plus épaisses et plus fermes que celles qui sont situées plus bas. Les grains d'amidon sont logés dans une masse protéique peu grumeleuse qui, en coupes minces, se présente comme un réseau. On n'y trouve pas des grains d'aleurone proprement dits; les gruaux sont trop indistincts pour mériter cette dénomination. Les grains d'amidon, dans les cellules placées vers la périphérie[1]) et à la pointe du grain, sont bien moins nombreux que

[1]) La région autour de la fente ou du pli qui pénètre dans le milieu de l'endosperme appartient à la périphérie primitive de ce dernier. Les grains d'amidon ne sont également ici que de grosseur moyenne ou même plus petits. La masse ou le réseau protéique, quoique fort, n'est pas aussi épais que dans les autres cellules amylifères moins comprimées de la périphérie.

plus bas dans l'endosperme; comme le montre la Fig. 1, ils sont à peu près d'égale grosseur et beaucoup plus petits que les gros grains des cellules intérieures. Plus on avance vers les parties centrales, plus est grande la richesse des cellules en amidon et plus augmente la grosseur des grains; à partir de la deuxième ou de la troisième couche, apparaissent les tout petits grains d'amidon, qui sont logés de la même manière que les gros et mélangés avec eux.

Le réseau protéique dans les cellules devient de plus en plus fin vers le centre du grain, mais ne manque nulle part. Sur les coupes minces des grains durs ou glacés secs, dont le contenu des cellules de l'endosperme n'est pas aussi friable que chez les grains tendres, on distingue très nettement le réseau en les mettant dans une dissolution assez fluide de baume de Canada. Les grains d'amidon ayant à très peu près le même pouvoir réfringent que le baume, on ne les y voit pas, mais ils ont une ressemblance frappante avec des cavités dans la masse fondamentale riche en protéine, le protoplasme. Chez les grains tendres dont le contenu des cellules de l'endosperme est facilement friable, on a cru quelquefois que le réseau protéique faisait défaut, notamment dans les cellules intérieures. Ce n'est cependant pas le cas. Si l'on durcit les grains (de préférence, après les avoir laissés tremper 1 à 2 jours dans l'eau) avec de l'alcool absolu, et les traite ensuite, suivant le procédé de M. Strasburger, par un mélange, d'alcool et de glycérine, on peut facilement obtenir des coupes minces mais cohérentes. Qu'on opère avec des grains tendres ou des grains glacés, il est toujours facile, en le colorant, de rendre le réseau distinct, surtout si la préparation, après avoir été lavée dans l'alcool, l'éther ou le chloroforme, est mise dans du baume de Canada. Le réseau protéique ne semble pas se teindre si fortement dans les cellules amylifères intérieures que dans les cellules extérieures.

Le réseau peut aussi être rendu distinct (après le lavage, si l'on emploie des grains durcis) en traitant pendant 15—30 minutes, sur le porte-objet, la préparation par l'acide nitrique étendu (15 à 25 %) additionné de quelques gouttes d'aloès nitrique[1]). Après que la préparation, qui reste toujours sur le porte-objet, a été lavée avec précaution avec de l'eau, on ajoute de la glycérine et place le couvre-objet.

La Fig. 5, Pl. III, montre le réseau de quelques-unes des cellules amylifères extérieures sur le côté du grain, et la Fig. 8, celui d'une cellule plus profondément située.

Le noyau des cellules amylifères est tout à fait indistinct.

Je n'ai pas trouvé de méats intercellulaires dans l'endosperme de l'orge. Les parois cellulaires de l'endosperme forment un tout et il n'y â pas de cellules libres. Les nombreuses figures qui représentent, chez l'orge, le seigle ou le fromeut, des cellules isolées chacune avec ces propres parois, ont besoin d'une rectification.

---

[1]) „Liqour picronitricus“, „Aloebeize“, „Scheidewasserbeize“.

Les grains d'orge et de froment séchés à l'air sont appelés „tendres" lorsqu'ils sont mous et que leur section présente un endosperme d'un blanc de neige velouté, qui est très poreux et friable; on dit qu'ils sont „glacés", lorsque de l'endosperme est dur, ferme, diaphane et que la section en est plus ou moins foncée. Il existe un grand nombre de transitions entre les deux types. Dans les grains demi-tendres, et les parties intérieures de l'endosperme sont ordinairement tendres, et les parties extérieures, glacées.

MM. Nowacki et Grønlund ont respectivement trouvé pour le froment et l'orge que, dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, il y avait de l'air entre les grains d'amidon, tandis qu'il n'y eu avait pas dans celles des grains glacés. M. Samsøe Lund a cependant indiqué dans l'endosperme de grains glacés la présence de quelques bulles d'air, et M. Grønlund a plus tard émis l'opinion qu'on trouve tantôt plus tantôt moins de bulles d'air dans les grains tendres que dans les grains glacés.

Les observateurs qui précèdent ont pratiqué leurs coupes à l'aide d'un rasoir, suivant la méthode ordinaire. En opérant ainsi, il arrive presque toujours que les coupes des grains glacés secs se brisent et que l'air s'y introduit, ce qui rend le résultat incertain.

On évite cet inconvénient en procédant comme il suit. Après avoir coupé le grain et en avoir lissé les surfaces mises à nu avec le rasoir, on en presse les morceaux, par le côté de la section, dans un mélange très épais de baume de Canada et de chloroforme, en ayant soin qu'aucune bulle d'air ne pénètre entre les surfaces lissées et le baume. Celui-ci est mis sur on porte-objet ou un couvre-objet pas trop petit, que, pour plus de fixité, on colle sur une petite plaque de verre avec de la gomme arabique.

Après que le baume est devenu solide et dur, on enlève de chaque morceau avec une petite lime ou un couteau une quantité suffisante pour qu'il en reste une plaque d'une épaisseur convenable, dont on lisse la surface avec le rasoir. La préparation est ensuite recouverte d'une couche de baume et mise sous un porte- ou couvre-objet, et après l'avoir laissée sécher, on dissout la gomme arabique dans de l'eau froide et enlève la plaque de verre.

On obtient ainsi avec les grains glacés des plaques tout à fait diaphanes qui ne renferment pas des bulles d'air, tandis qu'on en trouve un grand nombre dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, et elles sont d'autant plus nombreuses qui l'endosperme est plus tendre.

Comme les cellules de l'endosperme des grains tendres se désagrègent si facilement, les espaces remplis d'air doivent être distribués dans toute leur masse et non pas seulement sur leurs parois. Qu'ils ne remplacent pas le réseau protéique, cela résulte de ce qui a été dit p. 72.

C'est donc la présence d'espaces remplis d'air dans les cellules amylifères de l'endosperme qui caractérise les grains tendres. Outre cette particularité, on a aussi cherché d'autres différences anatomiques entre les deux espèces de grains. MM. Nowacki et Grønlund ont ainsi émis l'opinion que le réseau protéique manquait totalement

ou en partie dans les cellules de l'endosperme des grains tendres, mais nous avons vu que c'est inexact.

M Holzner croit que les grains d'orge glacés renferment un nombre relativement moins grand de gros grains d'amidon que les grains d'orge tendres. M. Thausing partage cette opinion et fait, bien à tort, complètement abstraction de la présence ou de l'absence des espaces remplis d'air. Les cellules extérieures les plus glacées des grains demi-tendres ne renferment pas de tout petits grains d'amidon, mais on les trouve mélangés avec les gros en nombre d'autant plus grand qu'on pénètre davantage au milieu du grain, c'est-à-dire dans les parties les plus tendres. De plus, l'endosperme tendre ne peut avoir l'aspect pulvérulent ou farineux, quelle que soit la grosseur des grains d'amidon. lorsque les espaces remplis d'air font défaut. Enfin on ne peut constater aucun changement relativement aux grains d'amidon, lorsque les grains glacés, après avoir été trempés dans l'eau et puis séchés, sont devenus tendres, de même que le réseau protéique semble n'avoir subi aucune modification, abstraction faite des espaces remplis d'air qui s'y sont formés.

Autant qu'on en peut juger sans recourir à des numérations qui seraient d'une exécution difficile, il semble qu'en comparant des parties correspondantes de l'endosperme (et ce sont les seules qu'on doive comparer) dans des grains durs et tendres de la même récolte, les premiers rénferment un bien plus grand nombre de petits grains d'amidon que les seconds. On peut cependant rencontrer des différences analogues dans une récolte ne comprenant que des grains glacés. Il en est de même relativement à l'étendue du réseau protéique où les grains d'amidon sont logés.

Que la couleur et l'éclat de l'enveloppe soient en grande partie déterminés par l'intérieur diaphane et glacé ou opaque et tendre du grain, cela est évident. Lorsqu'on écrase des grains glacés, les paillettes changent aussitôt de teinte. Celles qui accompagnent ces grains sont souvent très blanches. L'épaisseur de l'enveloppe, comme l'a déjà constanté M. Grønlund, n'est pas dans un rapport déterminé avec le caractère tendre ou glacé de l'endosperme.

Quant à la forme et à la grandeur des grains, il ne semble y avoir aucune règle. Dans la même récolte, les grains glacés seront très souvent les plus longs et les moins beaux.

Explication des Planches.

Planche I.

Fig. 1, schématisée comme les Fig. 2 et 3. Grossissement c. $\frac{16}{1}$. Coupe longitudinale médiane de l'ovaire de l'orge peu après la fécondation. A gauche, le côté ventral; à droite, le côté dorsal. *a*, tissu conducteur; *b*. sommet des téguments; *d*, faisceau vasculaire dans la suture ventrale; *m*, micropyle, qui, dans les jeunes ovaires, est tourné plus de côté; *se*, sac embryonnaire avec son contenu; *chl*, cellules chlorophylliennes.

Fig. 2, c. $\frac{16}{1}$. Coupe longitudinale perpendiculaire au plan médian; même phase que la Fig. 1. La coupe descend obliquement à travers les stigmates et le tissu conducteur. *a*, *b* et *chl*, comme dans la Fig. 1; *c*, faisceaux vasculaires, qui se perdent en haut dans les stigmates.

Fig. 3, c. $\frac{21}{1}$. Coupe transversale de l'ovaire menée par le milieu de la cavité ovarienne. L'endosperme se compose d'une couche de cellules nues. *a*, *b*, *c*, *d*, faisceaux vasculaires; *e*, point d'attache de l'ovule; *chl* et *ie*, comme dans la Fig. 8.

Fig. 4—7, c. $\frac{4}{1}$. Coupes longitudinales de l'ovaire de l'Hordeum macrolepis var. nigr. 4 et 5, pendant la fécondation; 6 et 7 peu après; *l*, paléoles.

Fig. 8, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 3; *e*, épiderme; *p*, parenchyme incolore, amylifère; *chl*, cellules vertes et amylifères allongées dans le sens transversal; *ei*, épiderme de la cavité ovarienne; *ie*, tégument externe; *ii*, téguments interne; *en*, épiderme du nucelle; *n*, reste du nucelle; *end*, endosperme jeune, cellules nues.

Fig. 9, c. $\frac{70}{1}$. Sac embryonnaire avant la fécondation (cfr. Fig. 12).

Fig. 10. Le même peu après la fécondation; orienté comme dans la Fig. 9, avec le même grossissement. Le noyau central (*c*) a peut-être commencé à se diviser; les antipodes (*a*) ne sont plus au fond du sac embryonnaire; dans la préparation, ces cellules se sont détachées de leur place en *x*; *e* & *s*, vésicule embryonnaire et synergides.

Fig. 11, c. $\frac{250}{1}$. Sommet des téguments dans l'ovaire non encore fécondé; *ie*, tégument externe; *ii*, tégument interne, dont la couche intérieure s'est divisée; *en*, épiderme du nucelle. Préparation par la potasse.

Fig. 12 = Fig. 9, c. $\frac{250}{1}$. Les lettres comme dans la Fig. 10. Les cordons du protoplasme ont été dessinés trop épais. Un des antipodes s'est détaché pendant la préparation.

Eig. 13, c. $\frac{70}{1}$. Coupe transversale de l'endosperme dans un grain long de 4,5 millimètres. *f*, côté du sillon (ventral).

Fig. 14, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 13.

Fig. 15, c. $\frac{4}{1}$. Coupe longitudinale du fruit dans la même phase.

Fig. 16, c. $\frac{120}{1}$. Partis de l'endosperme, *end*, avec quelques antipodes, *a*. La figure correspond aux Fig. 3 et 8.

Fig. 17, c. $\frac{250}{1}$. *a-g*, Différentes formes de noyaux de cellules en train de se diviser. Correspond aux Fig. 13—15.

Planche II.

Fig. 1, c. $\frac{70}{1}$. Coupe transversale. Moitié de l'endosperme d'un grain long de 5 à 5,5 millim. *s*, ligne de soudure; *o*, cellules de la couche extérieure qui ont déjà commencé à se différencier près du sillon.

Fig. 2, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 1. *s*, comme dans la Fig. 1.

Fig. 3, c. $\frac{4}{1}$. Coupe transversale d'un grain long de 6 à 7 millim. *s*, ligne de soudure, comme dans la Fig. 5. Les parties sombres indiquent les points où se montrent d'abord les grains d'amidon.

Fig. 4, c. $\frac{4}{1}$. Coupe londitudinale du grain dans la même phase; *emb*, embryon; *end*, endosperme; *e*, ligne d'attache de l'ovule.

Fig. 5, c. $\frac{250}{1}$. Partie de la Fig. 3 (*m*). *s*, ligne de soudure; *o*, cellules ne renfermant jamais de l'amidon et dont il n'y a encore qu'une seule couche (excepté près du sillon); l'amidon se forme dans les cellules voisines de *s*.

Fig. 6, c. $\frac{250}{1}$. Cellules d'endosperme avec de tout jeunes grains d'amidon rendus distincts par du chlorure de zinc iodé.

Fig. 7, c. $\frac{4}{1}$. Coupe longitudinale schématisée d'un grain long de 8,5 millim. *emb*, embryon; *end ab*, endosperme, en partie absorbé et épuisé par l'embryon; *ps*, *pi*, paillettes, qui ont commencé à se fixer au fruit; *e*, ligne d'attache de l'ovule; *n*, reste du nucelle. Au dedans, on voit un long espace vide.

Fig. 8, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale de l'endosperme d'un grain semblable. Partie vue du côté dorsal; *o*, comme dans la Fig. 5.

Fig. 9, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale du péricarpe d'un grain semblable. Partie voisine de la suture ventrale; les lettres comme dans la Pl. I, Fig. 8.

Fig. 10, c. $\frac{250}{1}$. Coupe tangentielle des cellules de la Fig. 8.

Planche III.

Fig. 1, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale d'un endosperme mûr et sec dans du baume de Canada. Partie du côté dorsal d'un grain glacé. *o*, comme dans la Pl. II, Fig. 5.

Fig. 2, c. $\frac{6}{1}$. Coupe longitudinale schématisée d'un grain mûr. *e*, ligne d'attache ou „Pigmentstrang"; les lettres comme dans la Fig. 6 *a*.

Fig. 3, c. $\frac{250}{1}$. Coupe transversale de toute l'enveloppe. Partie du côté dorsal traitée par le chlorure de zinc; *p*, paillette; *ep* & *t*, péricarpe et test.

Fig. 4, c. $\frac{250}{1}$. Coupe tangentielle des cellules oléifères (*o* de la Fig. 1); les parois eu sont gonflées; pour leur contenu, voir le texte.

Fig. 5, c. $\frac{360}{1}$. Cellules amylifères de la région périphérique de l'endosperme sur le côté du grain. On a enlevé les grains d'amidon pour faire voir le réseau protéique; conf. Fig. 8.

Fig. 6, c. $\frac{21}{1}$. Partie du sillon d'un grain encore vert et assez développé (Fig. 7, *f*). Coupe transversale. *d*, faisceau vasculaire; *e*, point d'attache; *n*, reste du nucelle; *o*, cellules oléifères de l'endosperme; *h*, cavité remplie de liquide; *p*, paillette.

Fig. 6 *a*, c. $\frac{21}{1}$. Fragment de la même partie dans un grain complètement développé (Fig. 7 *g*), coupe transversale; les lettres comme dans la Fig. 6; *h* apparaît seulement comme une raie étroite.

Fig. 7 *a*-*g*, c. $\frac{4}{1}$. Coupes transversales passant par le milieu d'un grain dans diverses phases de son développement.

Fig. 8, c. $\frac{360}{1}$. Réseau protéique d'une cellule amylifère dans les parties centrales de l'endosperme. Fragment.

Sur un apparail à température constante.

Par

L. Knudsen.

Lorsqu'en chauffant avec du gaz, on veut maintenir une température très constante, il ne suffit pas d'employer un thermo-régulateur. Dans tous les apparails de ce genre, qui, en principe, sont construits comme le thermo-régulateur de M. Reichert (voir Fresenius, Zeitschr. f. an. Chemie 1872, p. 35), où un liquide ou un gaz, par son changement de volume, règle l'écoulement du gaz à la lampe soit directement, soit indirectement en agissant sur une colonne de mercure ou un corps solide, il arrive en effet toujours que, si, pendant la régulation, l'orifice d'arrivée est alternativement ouvert et fermé, l'allumage et l'extinction de la lampe ont lieu à une température plus élevée lorsque la pression du gaz est forte que lorsqu'elle est faible; et si, au lieu de fermer complètement l'orifice, on ne le ferme qu'en partie, la fermeture doit être plus complète à une haute qu'è une basse pression pour produire le même changement dans la grandeur de la flamme. On voit donc que la température réglée par le thermo-régulateur sera, dans tous les cas, d'autant plus élevée que la pression du gaz sera elle-même plus grande. Le seul thermo-régulateur qui, sous ce rapport, soit indépendant de la pression, est celui construit par M. Scheibler (v. Fresenius, Zeitschr. f. an. Chemie 1868, p. 88), mais il est difficile de le maintenir longtemps en bon état. Il va sans dire que le changement ainsi produit dans la température par une pression variable, peut être rendu aussi petit qu'on voudra par l'emploi de thermo-régulateurs suffisamment grands, mais c'est ordinairement incommode et coûteux. Sous ce rapport, les régulateurs dont l'action est fondée sur la dilatation de substances gazeuses, et notamment ceux qui sont basés sur les variations de tension de vapeurs saturées avec la température, ont un grand avantage, comme ils n'ont pas besoin d'être bien grands pour annuler l'influence de la pression variable du gaz, mais ils ont tous le défaut d'être à un haut degré dépendants de la pression barométrique, d'où il suit qu'ils sont très peu

6*

sûrs et ne peuvent jamais, pendant longtemps, maintenir une température constante.

Dans ce qui précède, il n'a été question que du gaz que reçoit la lampe par l'intermédiaire du thermo-régulateur. Mais il est en général nécessaire et, en tout cas, pratique d'employer en même temps une flamme de sûreté afin que, si le régulateur intercepte l'afflux du gaz, on soit sûr que la lampe se rallumera lorsque le gaz arrivera de nouveau. Même si cette flamme est rendue aussi petite que possible, elle sera cependant toujours influencée d'une manière différente selon que la pression du gaz variera, et empêchera en tout cas de régler bien exactement le thermo-régulateur (comp. la méthode de réglage décrite plus bas; on y emploie une flamme de sûreté aussi grande que possible, et c'est justement la principale cause pour laquelle les oscillations de la température deviennent si petites). Il va sans dire que ni le régulateur de M. Scheibler, ni les grands régulateurs construits d'après le principe de M. Reichert, ne peuvent remédier à l'erreur qui résulte des variations dans la grandeur de la flamme de sûreté.

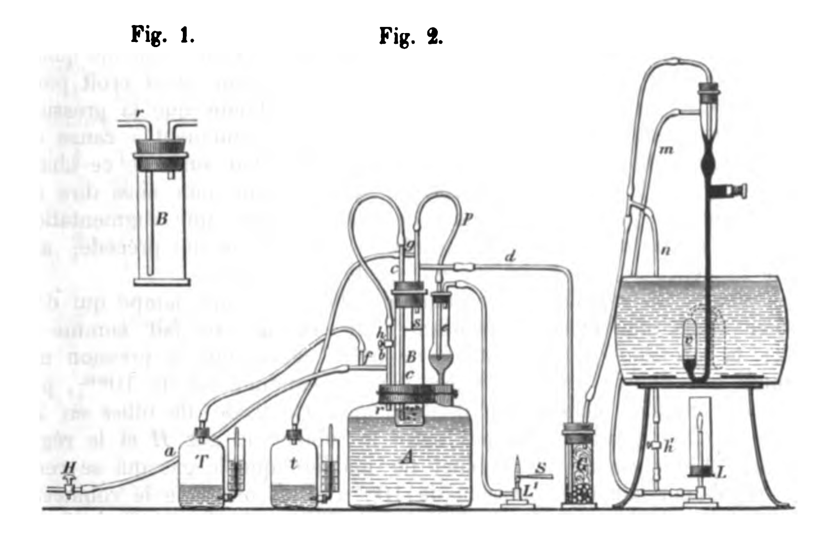
Comme exemple de l'influence qu'un changement dans la pression du gaz peut exercer sur la température à laquelle on règle un thermo-régulateur, nous citerons le suivant: un régulateur de Reichert de grandeur ordinaire, mais dont l'orifice latéral du tube d'arrivée du gaz était fermé (par conséquent sans flamme de sûreté), ayant été réglé à la température de 53 ^{0} C. et le gaz étant maintenu à une pression constante de $4^{mm.}$ d'eau, je constatai que la temperature oscillait entre 52,75 et 53,25 ^{0} C. Le pression du gaz était-elle ensuite portée à $15^{mm.}$ d'eau, sans qu'on touchât à la vis servant à régler le thermo-régulateur, la température variait entre 54,5 et 55,5 ^{0} C. Dans les deux cas, le gaz brûlait sans interruption. En chauffant davantage avec précaution à l'aide d'une autre lampe et en laissent ensuite refroidir lentement, on observait, dans le premier cas, que le régulateur éteignait la lampe lorsque la température avait atteint 54,5 ^{0} C.. et qu'elle se rallumait lorsque la température était tombée à 54 ^{0} C. Les températures correspondantes, dans le second cas, étaient: 55,75 ^{0} C. et 55,25 ^{0} C.

On voit donc que la pression du gaz a une influence très sensible et que, pour maintenir la température constante au moyen d'un thermo-régulateur, il est en même temps nécessaire de maintenir la pression du gaz invariable. On peut obtenir ce résultat à l'aide de l'appareil représenté Fig. 2.

Le principe de cet appareil est le suivant: le gaz étant amené par le tube r, sous une pression de $p^{mm.}$ d'eau, dans le vase B (Fig. 1) et de là à une lampe, la pression en B ($q^{mm.}$) sera moindre que p, et l'équilibre sera établi quand la quantité de gaz qui, dans un temps donné et avec une différence de pression $q^{mm.}$, peut s'écouler par le brûleur de la lampe sera égale à celle qui, dans le même temps et avec une différence de pression $(p-q)^{mm.}$ peut affleur par l'orifice du tube r. Si maintenaant la pression du gaz affluant divient $(p+a)^{mm.}$, et qu'on verse et même temps de l'eau dans B de manière que le tube r y plonge de $a^{mm.}$, quantité de gaz qui, dans l'unité de

temps, sort du tube *r* sera assez exactement déterminée par l'excès de pression à l'orifice de *r*, qui est $(p + a) - a = p^{mm.}$, par conséquent le même qu'auparavant, et la pression dans *B* sera donc aussi dans ce cas égale à $q^{mm.}$[1]). Le problème à résoudre est par suite

Fig. 1. Fig. 2.



de faire monter l'eau dans *B* d'autant de millim. que la pression du gaz croît. On y arrive de la manière suivante; le réservoir *A* (Fig. 2), qui est hermétiquement fermé et presque entièrement rempli d'huile, communique directement par *r* avec la conduite de gaz, et celui-ci est amené par *b*, qui est muni d'un robinet *h*, dans le tube *B*, auquel il convient de donner un diamètre de $3^1/_2$ centim. environ: après y avoir traversé une couche de liquide plus ou moins haute, le gaz se rend par *d* à la lampe. Le bocal cylindrique *G*, qui est rempli de coton non pressé, mais cependant arrangé de manière qu'il ne s'y trouve pas de grands canaux par lesquels le gaz puisse passer, ne sert qu'à retenir les gouttelettes d'huile entraînées par ce dernier. On peut, dans le même but, placer un écran *s* dans le tube *B*. Les

---

[1]) En prenant pour point de départ la formule de la vitesse théorique d'écoulement, le poids du gaz qui, dans l'unité de temps, s'écoule du tube *r* sera plus grand, même si la différence de pression ne varie pas, lorsque la pression du gaz est de $(p + a)^{mm.}$ que lorsqu'elle est de $p^{mm.}$, les poids étant proportionnels aux racines carrées des densités aux pressions $(p + a)^{mm}$ et $p^{mm.}$ Mais celles-ci sont à peu près égales, de sorte que même en tenant compte de la différence, la pression $q^{mm.}$ en *B* n'en recevra qu'un très petit accroissement. J'ai aussi trouvé que l'augmentation de *q* par un fort accroissement de *p* n'est accusée par les indicateurs de pression que lorsque la différence entre *p* et *q* est relativement petite.

tubes *a*, *r* et la partie de *d* qui est comprise entre *B* et *G* doivent avoir un calibre d'au moins $6^{mm.}$, les premiers pour que les variations dans la pression du gaz puissent rapidement réagir sur la pression en *A*, le dernier pour que les gouttelettes d'huile entraînées n'obstruent pas les tubes. Le diamètre de *A* étant grand par rapport à celui de *B*, une augmentation de $a^{mm.}$ dans la pression du gaz fera, à très peu de chose près, monter le liquide dans *B* de la même quantité, ce qui est dû à la circonstance qui la pression en *A* croît pour ainsi dire instantanément avec celle du gaz, tandis que la pression en *B* ne peut, en comparaison, croître que lentement à cause de l'écoulement de gaz qui a lieu par la lampe. Par suite de ce changement dans la hauteur du liquide, qui survient pour ainsi dire en même temps que le changement dans la pression, une augmentation dans la pression du gaz affluant n'aura, d'après ce qui précède, aucune influence sur celle du gaz qui quitte le régulateur.

Met-on le régulateur en communication avec une lampe qui doit brûler sous une pression constante, le réglage se fait comme il suit: la pression désirée est-elle de $5^{mm.}$, tandis que la pression minimum que pourra prendre le gaz dans la conduite est de $10^{mm.}$, par ex., on diminue celle-ci par l'intercalaton (à l'aide de tubes en *T*) d'une ou de plusieurs lampes entre le robinet du gaz *H* et le régulateur, et en réglant ce robinet de manière que le gaz qui se rend au régulateur ait une pression de $10^{mm.}$ Puis on règle le robinet *h* jusqu'a ce que la pression du gaz qui sort du régulateur soit de $5^{mm.}$, en veillant toujours à ce que celle du gaz qui y entre ne varie pas, et il suffit pour cela de régler de nouveau au besoin le robinet *H*. A-t-on ainsi obtenu que la pression du gaz qui va au régulateur soit de $10^{mm.}$ et celle du gaz qui le quitte, de $5^{mm.}$, on porte la première pression à $25^{mm.}$, par ex., et plonge le tube *c*[1]) dans l'huile d'une quantité plus ou moins grande, jusqu'à ce que le gaz sortant ait de nouveau une pression de $5^{mm.}$[2]). L'appareil est alors réglé, et la pression du gaz arrivant au régulateur peut varier au delà de $10^{mm.}$ sans que celle du gaz qui alimente la lampe en soit affectée. Les pressions sont mesurées par les indicateurs de pression *T* et *t*, qui sont en communication avec les tubes *f* et *g*, lesquels sont fermés avec des tubes en caoutchouc et des pinces à ressort quand l'apparail est réglé.

J'ai d'abord mis de l'eau dans la régulateur, mais elle s'évapore et il en résulte bientôt une augmentation dans la pression du gaz sortant. L'huile d'olive, par la'quelle je l'ai remplacée, ne présente pas cet inconvénient et permet de maintenir pour ainsi dire indéfiniment la pression constante.

---

[1]) Ce tube est à son extrémité inférieure coupé obliquement sous un angle de 45° env.

[2]) On doit de préférence boucher *B* avec un bouchon en liège luté avec de la cire ou le la laque. En lubréfiant avec de l'huile le trou par lequel passe le tube *c*, il est facile de relever ou d'enfoncer ce tube, même après un long repos. On procède de même pour le tube *e* dans la „soupape" (voir plus bas).

Comme exemples de la manière dont le régulateur fonctionne, je citerai les suivants. Dans chacun d'eux sont indiquées la pression minimum, prise comme point de départ, du gaz arrivant au régulateur, et la pression constante à laquelle l'apparail a été réglé. *T* et *t* désignent respectivement les pressions du gaz qui va au régulateur et qui en sort, et les nombres entre paranthèses, les pressions qu'on aurait si l'on empêchait le régulateur de fonctionner en retirant de l'huile le tube *c*.

I. Le régulateur était mis en communication avec une lampe ordinaire de Bunsen.

Ex. 1. Pression minimum: $5^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 5^{mm.} - 16^{mm.} - 35^{mm.} (35^{mm.}) - 40^{mm.} (40^{mm.})$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.} - 2^{mm.} (10^{mm.}) - 2^{mm.} (12^{mm.})$

Ex. 2. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $5^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 35^{mm.} (35^{mm.}) - 44^{mm.}$
$t = 5^{mm.} - 5^{mm.} (12^{mm.}) - 5^{mm.}$

Ex. 3. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $7^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 27^{mm.} - 35^{mm.} - 45^{mm.} (45^{mm.})$
$t = 7^{mm.} - 7\frac{1}{2}^{mm.} - 8^{mm.} - 8\frac{1}{2}^{mm.} (25^{mm.})$

Ex. 4. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.} - 35^{mm.} (35^{mm.})$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.} - 2^{mm.} (5^{mm.})$

Ex. 5. Pression minium: $15^{mm.}$; pression constante: $10^{mm.}$
$T = 15^{mm.} - 30^{mm.} - 36^{mm.} (36^{mm.}) - 46^{mm.} (46^{mm.})$
$t = 10^{mm.} - 10^{mm.} - 10^{mm.} (22^{mm.}) - 10^{mm.} (28^{mm.})$

II. Le régulateur était mis en communication avec 3 lampes de Bunsen, dont l'une avec un brûleur à très large ouverture[1]).

Ex. 1. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $2^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.} (30^{mm.}) - 40^{mm.}$
$t = 2^{mm.} - 2^{mm.} (5^{mm.}) - 2^{mm.}$

Ex. 2. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $5^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 35^{mm.} (35^{mm.})$
$t = 5^{mm.} - 5^{mm.} (12^{mm.})$

Ex. 3. Pression minimum: $10^{mm.}$; pression constante: $7^{mm.}$
$T = 10^{mm.} - 30^{mm.} (30^{mm.})$
$t = 7^{mm.} - 7^{mm.} (18^{mm.})$

Ex. 4. Pression minimum: $15^{mm.}$; pression constante: $10^{mm.}$
$T = 15^{mm.} - 32^{mm.} (32^{mm.}) - 38^{mm.}$
$t = 10^{mm.} - 10^{mm.} (20^{mm.}) - 10^{mm.}$

Le régulateur ne peut, à cause de la faible fluidité de l'huile, arrêter les oscillations instantanées dans la pression du gaz. Mais elles n'exercent aucune influence lorsque le régulateur doit être employé pour obtenir une température constante, comme il est à supposer qu'elles s'annulent mutuellement.

---

[1]) Il va sans dire que le nombre des lampes que le régulateur a à alimenter avec du gaz à pression constante doit se régler d'après le diamètre des canaux par lesquels le gaz devra passer.

Si l'on rétrécit ou ferme la conduite *d* par laquelle passe le gaz qui sort du régulateur, la pression augmentera peu à peu jusqu'à devenir, dans le dernier cas, égale à celle du gaz affluant. C'est donc ce qui aura lieu lorsque, entre le régulateur de pression et la lampe, on intercalera un thermo-regulateur, et que ce dernier interceptera en partie ou en totalité le courant de gaz qui alimente la lampe. Le régulateur de pression cessera alors de fonctionner, et si l'occlusion est complète, la pression du gaz qui arrive au thermo-régulateur deviendra égale à la pression variable qui règne dans la conduite. Pour l'empêcher, on établit une „soupape" qui permet au gaz de se rendre par le tube *e* à la lampe L^1, en même temps qu'il va par *d* à la lampe *L*. Le tube *e*, dont l'extrémité inférieure est coupée obliquement sous un angle de 45^0 environ, plonge dans l'huile à une profondeur variable suivant la pression constante qu'on veut avoir pour le gaz qui alimente la lampe *L*. La flamme de sûreté *S* sert à allumer le gaz qui doit passer par la soupape. Si, dans ces circonstances, l'ouverture qui, dans le thermo-régulateur, livre passage au gaz est rétrécie ou fermée, le gaz s'échappera par la lampe L^1 sans que le régulateur de pression cesse de fonctionner, et par conséquent sans que la pression du gaz qui se rend ou thermo-régulateur augmente. En procédant ainsi on perd, il est vrai, une certaine quantité de gaz, mais si la pression constante choisie n'est pas plus haute qu'il n'est nécessaire, et que la température environnante ne varie pas trop, elle est toujours très faible (voir plus bas). Comme la lampe L^1 s'éteint et se rallume constamment, il est bon, comme l'indique la Fig. 2, d'en enlever le tuyau pour empêcher que la flamme n'y descende. Afin de faciliter autant que possible le passage du gaz par la soupape, il faut donner une grande ouverture au bec de L^1 et la nettoyer à quelques jours d'intervalle.

J'ai employé comme thermo-régulateur un apparail de la forme représentée Fig. 2. C'est dans ces parties essentielles un régulateur de Reichert, seulement avec la différence que le liquide qui, par son changement de volume, détermine la régulation est de l'alcool, dout le réservoir *v* est presque rempli. Le coefficient de dilatation de l'alcool étant bien plus grand que celui du mercure, un pareil régulateur, toutes choses égales d'ailleurs, sera bien plus sensible qu'un régulateur ordinaire de Reichert, mais on ne peut lui donner la forme que celui-ci a en général, à savoir telle qu'il puisse être installé dans un bouchon et même dans des ouvertures très étroites; ici l'ouverture doit être plus grande et le bouchon, s'il en faut un, coupé en deux. Au lieu d'un seul réservoir, il est préférable d'en employer deux (comme on l'a indiqué dans la Fig. 2 par des lignes ponctuées) d'un plus petit diamètre, car on obtient ainsi que le régulateur, sans être moins sensible, suit plus facilement les variations de la température environnante. Si cette forme de la régulateur doit être employée à de hautes températures, on peut remplacer l'alcool du réservoir par de l'aniline[1]). La lampe *L* est alimentée en partie par le thermo-

---

[1]) Ces régulateurs sont construits par M. Jacob, fabricant d'instruments en verre, à Copenhague. Le remplissage doit se faire sur place,

régulateur, en partie par le tube *n*, qui est muni du robinet h^1, ce qui l'empêche de s'éteindre complètement. La flamme de cette lampe doit être protégée contre les courants d'air par un verre suffisamment large, qu'on place sur le tuyau à l'aide d'un bouchon muni d'ouvertures assez grandes pour le passage de l'air. Afin d'empêcher la flamme de la lampe de descendre dans le tuyau, il convient de mettre dans ce dernier un petit morceau de toile métallique en laiton, qu'on y introduii à l'aide d'une baguette. Pour plus de sûreté, on peut aussi, lorsque la flamme est très petite, fermer les ouvertures inférieures du tuyau de la lampe, ou bien encore employer une lampe comme L^1 sans tuyau. Lorsque la pression du gaz est faible, il peut être nécessaire, si l'on veut avoir une flamme suffisamment grande, d'élargir l'ouverture du bec de la lampe.

Pour régler le thermo-régulateur après qu'il a été mis en communication avec le régulateur de pression, on opère comme il suit: après avoir fermé le tube en caoutchouc *m* avec une pince á ressort, de sorte que la lampe n'est plus alimentée que par le robinet h^1, qui est tout ouvert, on ferme de la même manière le tube en caoutchouc *p* et règle le régulateur de pression à la pression qu'on juge nécessaire, mais que doit être un peu inférieure à la pression minimum du gaz. On rétablit énsuite la passage du gaz par *p* et, en fermant avec les doigts le tube *n*, enfonce le tube *p* dans l'huile aussi profondément que cela peut ce faire sans augmenter par là la pression du gaz sortant. Puis, le bain-marie est rempli d'eau à la température qu'on désire de maintenir, et lorsque, en réglant le robinet h^1 et peut-être en rapprochant ou en éloignant en même temps la lampe du bain-marie, on a obtenu que la quantité de gaz que la lampe reçoit par cette voie, même à la température la plus élevée du local, ne peut maintenir celle de l'eau, mais ne lui permet cependant que de tomber très lentement — et plus lentement elle tombe, mieux cela vaut — on ouvre le tube *m* et règle de nouveau le régulateur de pression à la pression constante qui répond à l'ouverture plus grande donnée ainsi à l'écoulement du gaz. Cela fait, on renouvelle en partie l'eau du bain-marie, jusqu'à ce que sa température dépasse celle à laquelle le régulateur doit être réglé d'au moins le même nombre de degréé dont on suppose que la température du local s'abaissera pendant la nuit, et a-t-on la certitude que la lampe, qui maintenant est alimentée par *m* et *n*, pourra relever la température, on remplace une partie de l'eau chaude par de l'eau froide jusqu'à ce que le bain-marie ait la température demandée, après quoi on règle le thermo-régulateur. Si la lampe, lorsque le gaz lui arrive à la fois par *m* et par *n*, ne peut fournir la chaleur nècessaire, il faudra élargir l'ouverture de son brûleur et peut-ëtre remplacer le tube qui amène la gaz au thermo-régulateur par un tube d'un plus grand calibre, mais pas plus grand qu'il n'est nécessaire afin d'éviter

---

mais ne présente aucune difficulté. Quant aux tubes d'arrivée du gaz on peut facilement les fabriquer soi-même, et il est bon d'en avoir de plusieurs calibres. On en coupe l'extrémité un peu obliquement avec une lime humectée d'huile de thérébenthine.



toute perte inutile de gaz. Pour que la soupape fonctionne d'une manière satisfaisante, il faut que le diamètre du tube *e* soit au moins égal à celui de l'orifice d'arrivée du gaz dans le thermo-régulateur, ou, s'il y en a plusieurs communiquant avec le même régulateur de pression, au moins à la somme de ces orifices. Le dinmètre du tube *e* ne peut guère cependant avoir moins de 4 millim.

Lorsque, au bout de 8 jours environ, le mercure du thermo-régulateur s'est terni à la surface, la température du bain-marie s'élève un peu (dans la régulateur dont je me suis servi, de $^1/_{40}$ ^{0} C.) et, si on le laisse en repos, elle augmente encore davantage. Il est facile, dès qu'on la remarque, de remédier à cette élévation de température, car il suffit de desserrer et puis de serrer de nouveau la vis avec laquelle on règle l'apparail, pour que le mercure descende dans la partie évasée du tube et remonte aussitôt. La même régulation s'obtient facilement en observant la grandeur de la flamme avant et après qu'on a tourné la vis. Si on le fait pendant que le régulateur intercepte en partie ou en totalité l'arrivée du gaz, il vaut mieux, pour éviter un trop fort échauffement, de fermer tout à fait avec les doigt le tube *m*. Il est indispensable que les tubes en caoutchouc qu'on emploie, même ceux en caoutchouc noir, soient bien nettoyés intérieurement.

Dans une expérience, le bain-marie employé avait un diamètre de 22 centim. et une hauteur de $16^{cm.}$; à $1^{cm.}$ du fond était établi un double fond de $18^{cm.}$ de diamètre et percé en son milieu d'une ouverture de $4^{cm.}$ Il était rempli d'eau jusqu'à $1^{cm.}$ du bord. Le réservoir du thermo-régulateur avait une longueur de $9^{cm.}$ sur $16^{cm.}$ d'épaisseur. L'eau était couverte d'une mince couche d'huile, mais le bain-marie n'était d'ailleurs nullement isolé. La température se mesurait en partie à l'aide d'un thermomètre fixe disposé de manière que son réservoir se trouvait à mi-hauteur du régulateur, en partie avec d'autres thermomètres mobiles au préalable exactement comparés avec le précédent. Tous les thermomètres indiquaient $^1/_{10}$ ^{0} C. et chaque division correspondante était de $1^{mm.}$ environ. Le thermo-régulateur était réglé à 45,5 ^{0} C. La température se maintint pendant un mois si constante qu'elle varia au plus de $^1/_{10}$ ^{0} C., et on constata avec les thermomètres mobiles que la température des points les plus différents du bain-marie ne s'écartait que de $^1/_{20}$ ^{0} C. environ de celle marquée par le thermomètre central. Dans une autre expériencs où la température constante était de 36 ^{0} C.[1]), mais où l'eau n'était pas couverte d'une couche d'huile, on obtint dans le bain-marie une température tout aussi uniforme et aussi constante en maintenant le

---

[1]) D'après ce qui a été dit plus haut du réglage, la flamme de sûreté ne peut, dans ce cas, à la pression constante choisie pour le gaz ($5^{mm.}$), maintenir à 36 ^{0} C. la température du bain-marie. Mais ferme-t-on *m* et porte-t-on à $10^{mm.}$ la pression du gaz, la flamme de sûreté fait, au bout de 2 h. environ, remonter la température à 44 ^{0} C. On voit donc que la pression du gaz, en changeant la grandeur de la flamme de sûreté, peut avoir une grande influence sur la température.

niveau constant à l'aide d'une bouteille de Mariotte, apparail qu'il est bon également d'employer, même lorsque l'eau est couverte d'une couche d'huile. Pendant ces expériences, la pression du gaz variait dans les 24 heures de c. $12^{mm.}$ à c. $55^{mm.}$ d'eau, et la température du local, entre c. 12° C. et 22° C. La pression minimum du gaz allant au régulateur de pression était de $10^{mm.}$ d'eau, et la pression constante du gaz qui en sortait, de $5^{mm.}$ Dans une expérience où 3 de ces thermostats étaient alimentés à la fois de gaz à la pression de $5^{mm.}$ par le même de régulateur de pression, et où les températures constantes étaient comprises entre c. 35° et c. 50° C., la quantité de gaz qui, dans les 24 heures, s'écoulait par la lampe L^1 s'élevait au plus à 300 déc. cubes.

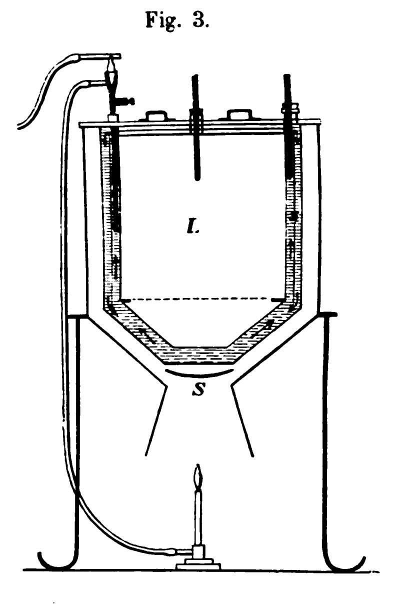
Si l'on met plusieurs bains-marie en communication avec la même bouteille de Mariotte, il faut que chacun d'eux, pendant qu'on le règle, soit isolé par une pince à ressort de cette bouteille et des autres bains-marie, comme autrement il passerait de l'eau d'un bain-marie dans un autre par suite du changement de niveau résultant du réglage, ce qui troublerait ce dernier ainsi que la température des autres bains-marie. Il va sans dire que le niveau de l'eau dans le bain-marie doit, après le réglage, être celui qui est maintenu par la bouteille de Mariotte. Si un objet doit être introduit dans le bain-marie, on oura soin de le chauffer au préalable à une température voisine de celle du bain et d'enlever l'eau déplacée pour que le niveau du bain reste invariable. Réciproquement, si un objet plongé dans le bain-marie doit en être retiré, on isolera provisoirement ce dernier de la bouteille de Mariotte, et ne le remettra en communication avec elle qu'après y avoir ajouté de l'eau à la même température, jusqu'à ce que le niveau maintenu par la bouteille de Mariotte soit rétabli. Lorsqu'on opère comme il vient d'être dit, il ne survient aucun trouble dans la marche du thermostat. Plus celui-ci est grand, moins il est nécessaire d'observer toutes ces précautions et plus il est facile de régler la flamme.

Je n'ai pas eu l'occasion de rechercher si le régulateur de pression en communication avec le thermo-régulateur peut, par un réglage exact, maintenir la température tout aussi constante lorsque celle-ci dépasse 50° C. environ, mais il n'y a aucune raison d'en douter si l'on emploie une isolation suffisante.

Je n'ai pas non plus examiné comment les choses se passent dans un bain d'air. Il est certain que l'introduction de nouveaux objets, toutes choses égales d'ailleurs, en troublera plus la température que celle d'un bain-marie. La température environnante exercera également une plus grande influence, de sorte qu'il sera certainement toujours nécessaire de recourir à l'isolation. Une forme pratique d'un pareil bain d'air, forme qui n'est qu'une modification du thermostat de M. Horstmann (Annalen der Oenologie, Bd. III, p. 4). est représentée dans ses parties essentielles Fig. 3. *L* est la masse d'air dont la température doit être maintenue constante; elle est entourrée en bas et sur les côtés d'un matelas d'eau. La forme qu'a celui-ci à sa partie inférieure a pour but de faciliter la circulation de l'eau, que les écrans *s* forcent à suivre la direction indiquée par les flèches, ce qui

permet à la couche d'eau extérieure d'agir en même temps comme isolant. L'isolation se fait du reste seulement à l'aide de l'air. Pour que l'eau puisse circuler facilement, le diamètre de la couche d'eau ne doit pas être trop petit; une épaisseur de c. 4 centim. remplira bien le but. Il convient de prendre un thermostat cylindrique afin que les parois puissent mieux résister à la pression de l'eau. Les fonds doivent être reliés entre eux par des cornières de tôle, et il est bon d'en mettre aussi entre les parois cylindriques, mais de manière à gêner aussi peu que possible la circulation de l'eau. La choue d'eatu extérieure agissant comme isolan, il suffit d'avoir dans le bas et sur les côtés un matelas d'air de c. 2$^{cm.}$ d'épaisseur. Par contre, il convient d'employer dans le couvercle 2—3 couches d'air, chacune de $^1/_2$$^{cm.}$ — 1$^{cm.}$ d'épaisseur. L'écran *S* est en tôle assez épaisse, et sert seulement à protéger le fond contre l'action directe de la flamme. La tôle plombée et peinte au minium pour mieux résister à l'action nuisible des produits de la combustion du gaz, constitue pour un pareil bain d'air une matière première à la fois pratique et bon marché. Le laboratoire de Carlsberg possède un grand exemplaire d'un bain d'air de ce genre, qui, avec un régulateur ordinaire de Reichert, maintient la température très constante.

Fig. 3.



Au lieu des tubes en *T* compliqués représentés Fig. 2, on peut, cela va sans dire, employer des tubes en *T* ordinaires réunis avec des tubes en caoutchouc. L'appareil peut ainsi être construit avec ce qu'on trouve dans chaque laboratoire.

Le défaut que présente le régulateur de pression, à savoir qu'il doit diminuer la pression pour pouvoir la régler, est commun à tous les appareils de ce genre jusqu'ici connus. Mais si les ouvertures dés brûleurs sont seulemeat assez grandes, on peut en général travailler tout aussi bien avec du gaz à faible qu'à forte pression.

Un autre défaut, c'est que le réglage du régulateur de pression doit varier suivant la grandeur de l'ouverture du brûleur. C'est pourquoi, s'il est déjà en communication avec un thermo-régulateur qui fonctionne, on ne peut le faire communiquer avec un second à moins de le régler de nouveau, ce qui se fait comme il a été dit plus haut (il n'y a toutefois rien à changer à la soupape), en choisissant pour le réglage le moment où l'orifice d'arrivée du gaz dans le premier thermo-régulateur est à son maximum.

JUSQUÁ QUELLE LIMITE PEUT-ON, PAR LA MÉTHODE DE M. HANSEN, CONSTATER UNE INFECTION DE »LEVÛRE SAUVAGE« DANS UNE MASSE DE LEVÛRE BASSE DE SACCHAROMYCES CEREVISIÆ?

PAR

JUST CHR. HOLM ET S. V. POULSEN.

Les recherches de M. le Dr. Hansen sur les maladies de la bière causées par des levûres alcooliques (Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg II Vol. 2 Liv., 1883, p. 52, et Zeitschrift für das ges. Brauwesen, München, 1884, p 273) montrent combien grande est l'influence qu'une infection de »levûre sauvage« peut avoir.

Il est donc de la plus grande importance de pouvoir constater la présence d'un pareil mélange, et, pour y arriver, la formation des ascospores chez les cellules de levûre est, pour le moment. le seul moyen analytique dont on dispose.

En nous référant au mémoire de M. Hansen (Résumé etc. II Vol. 2e Liv. p. 13 et suiv.), nous rappellerons seulement ici que c'est en partie l'époque différente où les diverses espèces développent leurs ascospores à une certaine température, et en partie les températures maximum et minimum applicables à chaque espèce, dont dépend l'emploi analytique de la production des ascospores (voir aussi le mémoire du même auteur I Vol. 4 Liv. 1882, p. 204—206, Note [2])). M. Hansen nous a en outre, tant à nous qu'à ses autres élèves au laboratoire, souvent donné des renseignements verbaux sur cette question, et c'est principalement sur eux que nous avons établi le plan des expériences qui suivent.

La sensibilité, dans toute méthode analytique, est un point toujours très important et souvent décisif; il s'agissait donc, dans ce cas, de déterminer la quantité minimum de »levûre sauvage«, dont on peut constater la présence dans la levûre basse de brasseries.

Les cultures pour faire développer des ascospores par les cellules de levûre ont été practiquées à l'aide de blocs de plâtre et avec des cellules jeunes et vigoureuses (voir le mémoire cité, II Vol. 2 Liv. p. 30).

On a employé dans ces essais comme levûre principale de la levûre basse du S. cerevisiæ (la levûre pure nº 1 de la brasserie), l'espèce sur laquelle est basée l'exploitation de la brasserie de vieux Carlsberg et d'un grand nombre d'autres, notamment dans les pays scandinaves, et, comme levûres de mélange, les levûres sauvages suivantes:

S. Pastorianus I.
S. Pastorianus III.
S. ellipsoïdeus II.

qui sont décrites dans le dernier mémoire cité p. 31 et suiv.

On s'est exclusivement servi de cultures pures de ces 4 formes. Le choix des levûres sauvages sus-nommées a été déterminé par la raison que, d'après les recherches de M. Hansen, elles provoquent des maladies dans la bière (trouble de la levûre, goût amer), et comme elles sont les seules chez qui ce fait ait été constaté, il n'y avait aucun motif pour en essayer d'autres. A 25 ° C., elles produisent des ascospores déjà au bout de 25—28 heures, tandis que la levûre nº 1 de la brasserie, à la même température, n'en développe qu'un très petit nombre au bout de 5 jours, ou, le plus souvent, pas du tout. La différence est donc considérable. — Si toutes les cellules, dans une culture sur le plâtre, donnaient des ascospores, nos recherches seraient superflues, tout étant alors déjà indiqué à l'avance dans les mémoires de M. Hansen; mais ce n'est pas le cas, car il y en a toujours un certain nombre qui, dans ces conditions, ne développent pas d'ascospores; à combien s'élève ce nombre, c'est ce qu'on n'a pas encore cherché à déterminer.

La levûre a été cultivée dans des ballons Pasteur (de $^1/_2$ à $^1/_8$ de litre) à demi remplis de moût de bière houblonné stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball.); les grands ballons ont donné 5 c. c. env., et les petits, 2—3 c. c. env. de levûre assez épaisse.

Après avoir obtenu, par une culture de 24 heures à 25 ° C. dans ces ballons Pasteur, des cellules jeunes et vigoureuses, on décantait presque toute la bière et secouait dans le reste la levûre de dépôt. Celle-ci était ensuite versée dans des bocaux stérilisés. On avait soin que la levûre provenant des différentes espèces eût, autant que possible, la même concentration. A l'aide de pipettes stérilisées, qui à leur extrémité supérieure, étaient munies d'un bouchon en ouate stérilisé, on mesurait ensuite la quantité jugée convenable. S'agissait-il, par ex., d'un mélange contenant 5 $^0/_0$ de »levûre sauvage«, on prenait 10 c. c. de S. cerevisiæ et $^1/_2$ c. c. de »levûre sauvage«, et, pour un mélange avec 1 $^0/_0$ de cette levûre, 10 c. c. de S. cerevisiæ et $^1/_{10}$ de c. c. »levûre sauvage« soit 2 gouttes avec la pipette dont nous nous servions, etc. Les mélanges étaient versés dans un bocal stérilisé, et on les remuait avec soin avant de les semer sur les blocs de plâtre.

Il serait trop long et en même temps inutile de mentionner tous les essais auxquels nous nous sommes livrés, comme nous avons toujours opéré de la même manière, en ne faisant varier que la proportion de la levûre sauvage. Nous avons commencé avec un mélange de 10 $^0/_0$ de

levûre sauvage. De chaque mélange nous faisions 2 cultures sur des blocs de plâtre (6 en tout), après quoi pour plus de sûreté, nous semions sur 2 autres blocs un mélange de S. cerevisiæ et des 3 espèces de levûres sauvages. Enfin, comme contrôle, nous procédions en même temps sur des blocs de plâtre à des cultures des 4 espèces en question, chacune pour soi. Les 12 blocs étaient placés dans un thermostat à 25 ° C. et examinés au bout de 40 heures. Le résultat a toujours été que les blocs ensemencés de levûres sauvages pures renfermaient un très grand nombre d'ascospores, que les 8 blocs avec un mélange à 10 % en contenaient encore beaucoup, mais qu'il n'y en avait pas un seul sur les blocs où l'on avait semé des cultures pures de S. cerevisiæ. Dans des essais, comme dans tous les autres, le contrôle ci-dessus mentionné a toujours pleinement confirmé que les ascospores observés ne provenaient pas du S. cerevisiæ, mais des levûres sauvages.

Nous avons entrepris une série d'essais semblables avec des mélanges à 5 %, 3 %, 2 % et 1 %, où, dans les deux derniers cas, la levûre sauvage ne formait donc respectivement que $^1/_{50}$ et $^1/_{100}$ de la masse, et, au bout de 48 h. env., on pouvait sans difficulté constater la présence de cellules avec des ascospores. Nous nous sommes efforcés de rendre la concentration des différentes espèces aussi égale que possible; cependant la levûre provenant des espèces sauvages était souvent plus fluide que celle produite par le S. cerevisiæ, ce qui veut dire que le mélange a plutôt été au-dessous qu'au-dessus de celui qui est indiqué dans chaque cas; la méthode est donc sans doute encore plus sensible qu'il n'est dit ici.

Il a en outre été fait un essai (8 blocs de plâtre) avec un mélange à $^1/_2$ %, où par conséquent $^1/_{200}$ de la masse était de la levûre sauvage, et nous avons également, au bout de 44 heures, pu trouver quelques cellules avec des ascospores dans toutes les cultures renfermant des levûres sauvages; seulement, pour deux d'entre celles, il a été nécessaire de prendre plusieurs échantillons avant d'y découvrir des cellules à ascospores. L'essai a été refait avec le même résultat.

On pourrait naturellement obtenir un résultat analogue avec un mélange encore plus faible, et trouver une ou un tout petit nombre de cellules à ascospores, en prenant beaucoup d'échantillons de chaque culture et en examinant chacun d'eux avec soin; mais comme cela n'a aucune importance practique, nous n'avons pas poussé nos essais plus loin.

Ce doit aussi être considéré comme un résultat satisfaisant pour l'emploi pratique de la méthode d'avoir pu constater la présence d'un mélange de levûre sauvage aussi faible que $^1/_{200}$ de la masse totale. Il nous suffira, à cet égard, de nous référer au mémoire cité plus haut de M. Hansen sur les maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliqnes, où il est dit que, lorsque le S Pastorianus III ou le S ellipsoïdeus II ne constitue que $^1/_{41}$ de la levûre de la mise en levain, et que la fermentation et l'enmagasinage de la bière se font d'après les procédés généralement en usage dans les bonnes brasseries, la maladie qu'ils occasionnent (trouble de la levûre) par leur présence en plus grande quantité ne se déclare pas. Pour les espèces dont il s'agit, il est donc plus que suffisant de pouvoir indiquer un mélange à $^1/_{200}$.

La rapidité avec laquelle on peut obtenir le résultat n'est pas non plus sans intérêt pur la pratique de l'analyse. Les essais faits dans ce but avec des mélanges à 2 et à 1 %, ont montré qu'on peut déjà après 30 heures trouver des cellules isolées avec des ascospores, mais que ce n'est cependant qu'au bout de 40 heures qu'elles apparaissent en assez grande quantité. Il vaudra donc mieux attendre jusque là pour faire l'analyse.

La formation des ascospores peut aussi, cela va sans dire, être employée pour reconnaître si des levûres autres que celle dont nous nous sommes occupés dans ce travail sont infectées ou non par des levûres de maladie. Mais on ne pourra pas, dans tous les cas, opérer à la même température, et il faudra par conséquent entreprendre une nouvelle série d'expériences avant de pouvoir donner, dans tous ses détails, la règle à suivre. Nous nous réservons de traiter cette question dans une communication ultérieure.

RECHERCHES SUR LA PHYSIOLOGIE ET LA MORPHOLOGIE DES FERMENTS ALCOOLIQUES.

PAR

EMIL CHR. HANSEN.

V.

MÉTHODES POUR OBTENIR DES CULTURES PURES DE SACCHAROMYCES ET DE MIKROORGANISMES ANALOGUES.

Dans la Revue du laboratoire pour 1882 et 1883, j'ai publiés quelques renseignements sur les méthodes que j'avais successivement imaginées dans le cours des dernières années pour obtenir avec certitude des cultures pures de Saccharomyces. La manière d'opérer n'y étant indiquée qu'à grands traits, j'ai été, de plusieurs côtés et à différentes reprises, invité à donner un exposé circonstancié de tous les détails, un guide pour ceux auxquels ce genre de travaux n'est pas encore familier, et qui leur permit de les exécuter eux-mêmes avec assurance et avec assez de facilité[1]). Si je ne satisfais qu'aujord'hui à cette demande, c'est parce que d'autres travaux plus importants ont absorbé jusqu'ici tout mon temps, et que j'ai voulu, au préalable, vérifier tel ou tel point pour pouvoir offrir un guide aussi bon et aussi complet que possible.

D'après la nature du sujet, un pareil guide doit renfermer la description d'une foule de petits détails, mais comme c'est justement de ces détails que se compose l'ensemale, ils méritent toute attention.

---

[1]) Je reçois aussi assez souvent des demandes de renseignements sur les appareils employés au laboratoire de Carlsberg pour mes expériences sur les fermentations. Ces appareils, en tant qu'ils sont en verre, se trouvent en général chez M. Jacob, 30 Gothersgade, à Copenhague.



Les communications qui suivent constituent une partie des cours de physiologie des fermentations que j'ai faits dans les dernières années au laboratoire pour des naturalistes étrangers.

En établissant une culture pure de tel ou tel microorganisme, nous nous proposons en général ou d'obtenir des renseignements sur son évolution et sa morphologie, ou de faire des expériences physiologiques. Dans le premier cas, ce sont des variations de croissance et de forme que nous désirons observer, recherche qui doit naturellement se faire à la table du microscope. Par l'observation directe. nous suivons, par ex.. la germination d'un spore de champignon et son développement ultérieur jusqu'à ce que la plante en provient ait elle-même produit des spores. Il est digne de remarque qu'il n'est pas besoin pour cela d'une culture en masse — un cherche même à l'éviter — et qu'une culture absolument pure n'est pas non plus nécessaire. Peu importe que quelques organismes étrangers soient présents, pourvu qu'ils ne gènent pas d'une manière sensible celui dont on veut étudier le développement, et que leur aspect diffère assez de celui de ce dernier, pour qu'aucune confusion ne puisse avoir lieu.

Il en est tout autrement de l'expérimentation physiologique; dans la plupart des cas, elle se fait loin de la table du microscope, en grande partie sans le contrôle de cet instrument, mais exige par cela seul des cultures absolument pures, le plus souvent conjointement avec une culture en masse. C'est seulement de cette espèce de cultures pures que nous allons nous occuper.

La voie par laquelle on pourra toujours obtenir une culture pure, quelles que soient les propriétés physiologiques et morphologiques du microorganisme à examiner, se présente d'elle-même; c'est l'ensemencement d'une seule cellule dans un liquide nourricier stérilisé à l'avance d'une manière telle, que des organismes étrangers ne puissent s'y glisser pendant la culture. Autant l'idée est simple, autant étaient grandes les difficultés qu'il a fallu surmonter avant que le problème pût être en quelque sorte regardé comme rèsolu. Plusieurs savants se sont de nos jours occupés de cette question, en s'appuyant les uns sur les autres. Dans les dernières années, on s'est surtout efforcé de rendre le travail plus facile et plus rapide, quelquefois aux dépens de la certitude.

Mes premières cultures pures ont été faites à l'aide d'une méthode de dilution. Les cellules étaient en effet additionnées d'un volume d'eau stérilisée d'une grandeur telle que 2 c. c. du mélange, lorsque les cellules

y étaient uniformément réparties, ne devaient renfermer qu'une cellule. Si l'on fait une série d'ensemencements, chacun de 1 c. c., il n'y en aura donc que de deux l'un qui devrait donner une cellule. C'est ainsi, par ex., que MM. Nägeli et Fitz ont préparé leurs cultures pures de bactéries. Mais la théorie montre déjà qu'on ne peut par ce moyen arriver à une complète certitude. La question est donc de savoir comment il sera possible de distinguer les ballons qui renferment plusieurs cellules de ceux qui n'en renferment qu'une. J'y suis parvenu à l'aide d'un caractère important fourni par le nombre des taches de levûre qui se forment dans les ballons. En effet si, dans un ballon renfermant un liquide nourricier, on introduit *n* cellules et qu'on le secoue pour répartir les cellules, celles-ci, le liquide une fois en repos, se logent au fond du ballon et y forment *n* taches, qui, après avoir atteint une certaine grandeur, peuvent facilement être observées et comptées à l'œil nu. Les ballons dans lesquels il ne s'est développé qu'une seule tache de levûre n'ont aussi reçu chacun qu'une seule cellule vivante. (Voir pour l'explication détaillée de la méthode mon mémoire de 1883, p. 25).

Telle était la nouvelle contribution que mes études avaient apportée sur ce point au développement de la méthode. On obtient par là une certitude plus grande qu'auparavant. Quant aux manipulations, il n'y a rien d'essentiel à ajouter à mes précédentes communications. (Voir le chapitre »Méthodes«, p. 23—26).

Un avantage important de cette méthode, c'est que. du moment qu'on a vraiment réussi à obtenir l'ensemencement d'une seule cellule dans un ballon renfermant un liquide nourricier, on a en même temps toutes les conditions pour faire une culture en grand sans avoir à craindre aucune infection venant du dehors. Mais la méthode est coûteuse, car elle exige un grand nombre de ballons; elle demande en outre plus de travail, plus d'expérience et plus de soin que n'en réclame la méthode décrite plus loin. Aussi n'est-elle employée maintenant que dans quelques cas. A-t-on affaire, par ex., avec un mélange de différentes espèces de levûres. dont quelques-unes sont vigoureuses et d'autres affaiblies, et veut-on précisément isoler ces dernières, il n'y aura en général pas d'autre moyen que d'y avoir de nouveau recours. De pareilles cellules ne se développent pas en effet ordinairement dans la gélatine nourricière (le substratum employé dans la méthode suivante), mais au contraire avec plus grande facilité dans des liquides. J'ai eu souvent l'occasion d'en faire l'expérience notamment dans les analyses de microorganismes vivant dans la terre.

Comme on sait, les cultures pures de bactéries, dans ces dernières années, se font en général d'après la méthode suivante de M. Koch; Quelques-unes des cellules qu'il s'agit de cultiver à l'état de pureté sont mises dans de la gélatine nourricière liquide, après quoi on secoue le tout pour les y répartir aussi également que possible. Le mélange est

versé sur une plaque de verre stérilisée, qui est ensuite placée dans une enceinte humide à une température convenable; les cellules qui sont emprisonnées dans la gélatine figée développent successivement des végétations. Mais il est évident qu'on n'a pas la certitude que chacune des végétations développées dans la gélatine n'est formée que par une seule cellule. Les différentes espèces de bactéries peuvent donner, il est vrai, des taches d'un aspect différent, ce qui facilite beaucoup l'emploi de la méthode. Mais cette ressource fait défaut chez les Saccharomyces; aussi faut-il procéder d'une autre manière pour en obtenir des cultures pures. Dans ce but, au lieu de verser la culture de gélatine sur une plaque ordinaire de verre, je la verse sur la face inférieure d'une lame de verre couvre-objet qui est ensuite fixée à une chambre humide (de Böttcher), et je m'assure à l'aide du microscope si les taches de végétation que j'emploie plus tard pour des cultures en grand proviennent réellement chacune d'une seule cellule.

C'est cette modification de la méthode de M. Koch qui est maintenant le plus fréquemment employée au laboratoire de Carlsberg, comme aussi dans les établissements du Danemark et de l'étranger qui, sur le modèle de Carlsberg, fabriquent pour l'industrie de la levûre pure provenant de races choisies, et s'occupent de l'étude des levûres. Pour la limite de la méthode, etc. voir mon mémoire de 1883, p. 26—29. Dans ce qui suit, on trouvera l'exposé détaillé que j'avais promis de tous les travaux que s'y rapportent, ainsi que la description des appareils employés.

1. Préparatifs: Comme pour les autres expériences de ce genre, il faut avoir soin, autant que possible, que l'air ne renferme pas de poussières ni, par conséquent, de germes; si la chose est faisable, on fermera à clef, quelque temps à l'avance, la pièce où doit se faire l'expérience, afin que l'air puisse s'y mettre en repos. On peut se procurer une petite chambre de travail où l'air est presque complètement dépouillé de germes, à l'aide d'une caisse qui est juste assez grande pour qu'on puisse y introduire les bras et les remuer avec une liberté suffisante; il faut en outre que la caisse soit bien éclairée du dehors, et qu'elle ait une porte glissant verticalement dans des coulisses et pouvant être maintenue à la hauteur voulue. On en lave partout l'intérieur avec de l'eau stérilisée, la laisse pendant quelque temps fermée dans la pièce où elle doit être employée et ouvre alors la porte avec précaution. L'exemplaire que possède le laboratoire a intérieurement une hauteur de 56, une largeur de 63 et une profondeur de 50 cm. La porte, de même que le plafond et les trois faces, sont de grandes glaces encastrées dans de solides cadres en bois, tandis que le fond est complètement en bois. La porte une fois abaissée, peut être fermée à clef. Dans plusieurs cas, il sera peut-être plus commode de se servir d'une caisse de dimensions plus petites. Mais les descriptions qui suivent supposent toujours qu'on opère dans une pièce ordinaire sans le secours de cet appareil.

On se sert des instruments et des appareils suivants: une paire de pinces, une dixaine de minces baguettes de verre, 2—3 chambres humides (de Böttcher) avec des anneaux de 30 millim. de diamètre, quelques

lames de verre eouvrc-objet appropriées, 2—3 morceaux de fil de platine de 1 1/2 cm. de long sur 1/2 millim. d'épaisseur et quelques plaquet et cloches de verre. La Fig. 1 est, sur une échelle réduite, une coupe verticale de la chambre humide ci-dessus mentionnée; *a* est la lame de verre couvre-objet, sur la face inférieure *b* de laquelle se fait la culture; *c* est l'anneau de la chambre et *d*, une couche d'eau répandue sur le fond pour empècher l'évaporation. Tous ces objets doivent être flambés à l'aide d'une flamme de gaz ou d'esprit de vin, ou mieux être enveloppés dans plusieurs couches de papier à filtrer et puis stérilisés dans un chauffoir (à 150 ° C. pendant 2 heures). Avant de s'en servir, il faut naturellement les laisser suffisamment refroidir. Le bord libre de l'anneau des chambres humides est enduit de vaseline, et on verse sur le fond de celles-ci un peu d'eau stérilisée.[1]) Les fils de platine sont placés sur une petite plaque de verre stérilisée de manière à pouvoir être facilement saisis avec une des pinces, et recouverts d'une cloche en verre; on en fait autant pour les lames de verre couvre-objet et les chambres.

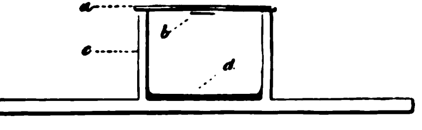


Fig. 1.

Un bain-marie chauffé à 30—35 ° C. est tenu prêt ainsi qu'un support pour y maintenir les ballons Chamberland mentionnés ci-après. Il en faut deux (chacun de 30 c. c. env.) remplis à moitié d'eau stérilisée, et deux autres remplis à moitié de gélatine nourricière; on en flambe la surface et les laisse sous une cloche jusqu'à ce qu'ils doivent être employés. Comme le montre la Fig. 2, ils sont formés avec un capuchon à recouvrement à l'émeri et dont le tube mince est rempli de coton stérilisé. Quant à la gélatine, on se sert d'une solution à 5 % dans du moût clair houblonné (14 % Ball. env.). (Cette solution s'est aussi montrée d'un bon emploi dans les cas où l'on fait des ensemencements de ferments alcooliques qui ne peuvent pas faire fermenter la maltose, tels que le Sacch. apiculatus, le Sacch. exiguus et quelques espèces qui, pour la forme, ressemblent au Sacch. exiguus, mais ne développent pas d'endospores). Une proportion de gélatine inférieure à 5 % n'est pas à conseiller; qu'on la prenne plutôt plus grande. Au lieu de moût, on peut aussi employer un liquide nourricier consistant en une solution de dextrose à 10 %, à laquelle on ajoute de l'eau de levûre jusqu'à ce que le liquide prenne une couleur jaune distincte. La gélatine


Fig. 2.

1) Pour fixer les anneaüx à la lame porte-objet, je puis recommander une solution de gélatine dans l'acide acétique cristallisable (Acetum conc. pur.) à laquelle, avant de s'en servir, on ajoute du chromate jaune de potasse (ou bichromate de potasse) en poudre fine même que le colle (Glaslim) de M. Jensen, 20 Frederiksborggade à Copenhague.

dont il est parlé dans ce qui suit est toujours celle qui est préparée avec du moût de bière.

2. **Production de la culture pure:** Les ballons qui renferment la gélatine nourricière sont chauffés avec précaution jusqu'à ce que leur contenu devienne liquide, et portés ensuite au bain-marie. Comme point de départ pour la culture pure, il convient de prendre une végétation de cellules jeunes et vigoureuses. On en délaye un petit nombre dans un des ballons Chamberland à eau stérilisée jusqu'à ce que celle-ci devienne légèrement troublé, secoue ensuite le ballon pour y répartir les cellules aussi également que possible et, cela fait, y puise avec une baguette en verre quelques gouttes qui sont examinées au microscope. Pour cet examen microscopique comme pour ceux dont il sera question plus loin, je me sers d'un grossissement aussi faible que possible. c'est à-dire d'un objectif et d'un oculaire me permettant tout juste de distinguer clairement les cellules d'avec les autres petits corps qui les accompagnent. On obtient par là le champ de vision le plus grand possible et opère en même temps plus vite. Emploie-t-on un microscope de Zeiss, à Jéna, je recommende l'oculaire n° 1 et l'objectif DD, Le but de ce premier examen microscopique est d'apprécier la richesse du mélange en cellules. Après avoir de nouveau secoué suffisamment ce dernier, on y trempe un des fils de platine et le reporte rapidement dans un des ballons renfermant la gélatine liquide. Tant dans cet essai pour obtenir une égale répartition des cellules que dans les suivants. il faut éviter de former de l'écume. La température de la gélatine ne doit pas dépasser 35 ^{0} C.; il suffit qu'elle se maintienne liquide. L'examen microscopique a-t-il montré que le mélange aqueux est riche en cellules, on n'y trempe le fil de platine qu'à une petite profondeur, 2 millim., par ex.; dans le cas contraire, on l'enfonce davantage.

Après avoir secoué la gélatine infectée pour obtenir une égale répartition des cellules, on en prend quelques gouttes avec une baguette en verre pour les examiner au microscope. Pour plus de sûreté, il faut opérer sur deux échantillons; s'ils donnent chacun le même résultat, il y a lieu de supposer que les cellules sont également réparties et qu'on a obtenu des échantillons moyens. Il s'agit alors de déterminer si la gélatine a reçu ou non un nombre convenable de cellules: commet-on à cet égard une erreur grave, tout le travail ultérieur est fait en pure perte. Pour que la répartition des cellules dans la gélatine soit telle qu'on puisse avec certitude obtenir des cultures pures, il faut que les taches de végétation qui se forment plus tard aient une place suffisante, de manières qu'elles ne puissent se fusionner ou du moins que cela n'arrive pas souvent. C'est pourquoi on cherche par ce contrôle à être fixé sur la répartition des cellules et avant tout sur la distance qui les sépare. Si l'on se sert pour cette épreuve de préparations microscopiques ordinaires, il ne faut pas oublier que les cellules. dans la gélatine qui doit servir à l'essai, sont en réalité beaucoup plus rapprochées les unes des autres que dans les gouttes fortement aplaties de ces préparations. Aussi une grande habitude est-elle nécessaire pour pouvoir tirer de là une conclusion suffisamment sûre. On arrive au contraire à ce résultat en prenant des gouttes de la nature (grandeur, forme, etc.) que nous emploierons plus tard. Ces gouttes sont portées sur une lame de verre

porte-objet ordinaire, ou mieux sur un porte-objet où sont gravés des carrés, et alors sur les traits gravés eux-mêmes. Les carrés donnent en effet des points de repère pour l'examen microscopique, qui devient par là plus facile et plus sûre. On n'emploie pas de lame de verre couvre-objet, et peut bien procéder tout de suite à cet examen pendant que la gélatine est encore fluide.

C'est un fait connu que des cellules qui, dans des liquides nourriciers peuvent donner des signes de vie, souvent ne le font pas dans la gélatine. De là cette conséquence, que d'ordinaire toutes les cellules semées dans la gélatine ne produisent pas de taches de végétation; néanmoins, les commençants en général, trouveront que le nombre de ces taches dépasse celui des cellules qu'ils ont observées au commencement de l'essai, et cela parce que plusieurs de ces dernières ont échappé à leur attention. La faute qu'en somme on commet le plus souvent, c'est de semer un trop grand nombre de cellules.

Si l'espèce à examimer est prédominante dans la levûre prise comme point de départ, il vaut mieux ne semer dans la gélatine qu'un petit nombre de cellules; dans le cas contraire, il faut opérer avec un nombre de cellules aussi grand que le comporte la préparation d'une culture pure. On procédera de même s'il s'agit d'obtenir en même temps, dans un essai, des cultures de plusieurs espèces originairement mêlées ensemble; dans ce cas, il faudra naturellement redoubler d'attention, car le danger qu'une tache de végetation puisse être formée à la fois par plusieurs espèces, est plus grand que lorsque l'espèce qu'on veut étudier prédomine dès l'origine dans la levûre sur laquelle on opère.

Le contrôle montre-t-il qu'on a semé trop peu ou trop de cellules, il faut, dans le premier cas, ajouter plus de cellules et, dans le second, plus de gélatine nourricière, le tout après un calcul préalable. Trouve-t-on, par ex., que le mélange renferme deux fois plus de cellules que le nombre voulu, on obtiendra la dilution convenable en y ajoutant une portion de gélatine aussi grande que celle qui s'y trouve déjà, et inversement, veut-on doubler le nombre des cellules. il suffira de procéder une seconde fois à une infection semblable à la première, supposé, bien entendu, qu'on ait rémarqué à quelle profondeur le fil de platine a été enfoncé dans le mélange d'eau et de cellules lors de la première infection.

Ce point important une fois éclairci, on porte rapidement une portion convenable de la gélatine nourricière infectée sur les lames de verre couvre-objet, qui sont assitôt recouvertes chacune d'une petite cloche. Si la table sur laquelle elles reposent est quelque peu horizontale, il n'est pas besoin d'autre orientement. Il faut, cela va sans dire, maintenir la gélatine toujours fluide dans le bain-marie, et y répartir également les cellules en la secouant. Comme il a été dit plus haut, on doit éviter toute formation d'écume. Après que les lames couvre-objet ont reçu leur portion de gélatine, on vide le ballon qui le renferme en n'en laissant au fond qu'one couche mince. Cette opération a un double but: en exposant le ballon avec son reste de gélatine à la même température que les lames couvre-objet, on a un moyen facile et sûr de savoir quand

la gélatine de ces derniers est figée, car lorsqu'elle l'est dans le ballon, elle le sera aussi sur les lames. Enfin ce reste de gélatine doit servir comme une espèce de réserve, au cas que les cultures dans les chambres viennent à échouer, ce qui pourtant n'arrive pas facilement si l'on opère avec soin. On se rappellera que les taches développées dans le ballon ne peuvent pas avec certitude être prises pour des cultures pures. A la température ordinaire d'un appartement, la gélatine dont il est toujours question ici (5 °/o de gélatine dans du moût clair houblonné à 14 °/o Ball. env.) met ordinairement à peine un quart d'heure à se figer ; pour aller plus vite, on peut refroidir avec de la glace. Le motif pour lequel la gélatine fluides est mise de suite sur une lame couvre-objet et, seulement après qu'elle s'est figée, dans une position inclinée, c'est qu'ainsi on peut plus facilement et sans crainte de troubler la culture, fixer la lame au bord enduit de vaseline de l'anneau de la chambre humide; il est de plus à supposer que, de cette manière, la goutte sera moins bombée; mais on ne remarque en tout cas aucune différence bien prononcée. Il en est de même des gouttes qui se figent lentement à la température de la pièce et rapidement à l'aide de la glace.

Dès que la gèlatine est figée, on fixe la lame couvre-objet à l'anneau ci-dessus mentionné de manière que la culture soit tournée en bas. Par une pression exercée avec précaution sur les points du verre qui touchent l'anneau, on a soin de rendre la liaison complète, de façon que la chambre soit entièrement isolée du milieu environnant. Pour empêcher que la lame couvre-objet ne puisse glisser si elle vient à être touchée, il est bon d'y fondre en deux ou trois points un peu de cire à cacheter.

3. **Contrôle sur le porte-objet du microscope:** Les chambres une fois en ordre sont examinées à l'aide du faible grossissement mentionné plus haut; c'est seulement dans des cas douteux qu'il faut recourir à des objectifs plus forts. La première chose à faire est d'observer si les cellules sont disposées de manière que des taches isolées puissent se développer de chacune d'elles; dans ce cas, il n'est plus besoin de contrôle. Mais il arrive souvent que certaines parties de la préparation n'offrent pas une pareille certitude; il faut alors les délimiter. Cela peut se faire à l'aide de marques tracées sur la lame en question avec un pinceau fin et une couleur blanche à la gomme. Il n'est pas rare que les cellules soient réparties de façon qu'il devient nécessaire d'observer spécialement certaines d'entre elles et d'en suivre le développement. Pour ce contrôle, on peut faire des marques, par ex., des croix, à droite et à gauche, sur la platine du microscope, ainsi que des marques correspondantes sur le verre porte-objet de la chambre, de manière à pouvoir toujours retrouver l'image microscopique cherchée. C'est ce procédé que j'ai d'abord suivi; plus tard M. Will s'est servi de lames de verre couvre-objet, sur une face desquelles il avait gravé à l'acide fluorhydrique un grand nombre de lignes se coupant à angle droit et formant de petits carrés de 1 millim. de côté, dont les deux rangées extérieures contiguës étaient numérotées. Ces nombres et ces lignes fournissent d'excellents points de repère. M. Alfred Jörgensen m'a dit qu'il avait

toujours trouvé dans ces essais que le plus pratique était de placer les nombres chacun dans son carré, car non seulement ils servent à désigner certains carrés, mais, par les figures qu'ils forment, ils sont aussi d'un grand secours pour retrouver plus facilement la cellule dont on veut suivre le développement. On peut mettre la gélatine indifféremment sur l'une ou l'autre face, mais l'observation est sans doute rendue plus facile quand la culture est placée sur la face gravée. Dans ces derniers temps, nous avons aussi avec succès employé au laboratoire le marqueur [1]) Cet appareil se visse au tube au lieu de l'objectif, et, par le mouvement ordinaire à vis du microscope, est amené ensuite sur la lame couvre-objet, où, par un contact assez léger, il imprime un anneau coloré et délimite ainsi un point déterminé à l'avance. Le diamètre de l'anneau est de $1^1/_2$ millim.; s'il était plus petit, il serait encore d'une plus grande utilité dans des recherches de ce genre. On pourrait aussi. dans le même but, employer une table à microscope mobile avec des divisions. Dans tous les cas, il s'agit de s'assurer que les taches de végétation qui serviront plus tard pour les cultures en grand sont réellement des cultures absolument pures, c'est-à-dire provenant chacune d'une seule cellule. Le travail exécuté depuis le commencement de l'essai (préparatifs p. 95 etc.) jusqu'au point où nous en sommes arrivé prend environ 3 heures pour un expérimentateur un peu exercé.

Après s'être ainsi assuré des points de repère, on place les chambres et le ballon Chamberland avec son reste de gélatine dans un thermostat à 24—25 ° C. A défaut de cet appareil, ils peuvent rester où ils sont à la température ordinaire d'un appartement, Si l'on travaille avec plusieurs chambres à la fois, il est pratique de les ranger dans un support spécial, où elles sont placées l'une au-dessus de l'autre sans se toucher. S'il y a un microscope de reste, on peut aussi visser une chambre à sa platine et mettre l'objectif au point de vision nette de la cellule dont on désire employer la végétation; il est alors très facile d'en suivre le développement pas à pas (voir mon mémoire, II Vol. 2 Liv., 1883, p, 28). Le même résultat s'obtient, quoique avec un peu plus de difficulté, en retirant de temps à autre les chambres et en les plaçant sur la platine d'après les marques. Dans tous les cas douteux, il ne faut pas manquer de recourir à un pareil contrôle. Il sera du reste en général facile et n'exigera pas de grands efforts si seulement on a opéré avec une dilution convenable et avec exactitude. Ce qui distingue cette manière de procéder, c'est *qu'on n'abandonne rien au hasard, mais assure chacun de ces pas.* C'est en outre un grand avantage que, *sans troubler les végétations ni les exposer à une infection venant du dehors,* on puisse les examiner à volonté non seulement avec de faibles grossissements, mais aussi avec de forts objectifs. Il devient aussi par là possible de faire des observations sur l'évolution, observations qui ont de l'importance pour la connaissance des espèces sur lesquelles on opère,

---

[1]) Klönne & Müller, Prinzenst.. 71, Berlin.

Dans les conditions ci-dessus décrites, il se développe des taches de végétations visibles à l'œil nu au bout de 2 ou 3 jours, suivant que les cultures ont été exposées à 24—25 ° C. ou à la température ordinaire d'un appartement. Cette règle s'applique à tous les Saccharomyces et à toutes les cellules ressemblant à des Saccharomyces, Mycoderma vini, Myc. cerevisiæ, Torula de Pasteur, etc., qui ont jusqu'ici été étudiés au laboratoire. Chez les Saccharomyces et la plupart des formes que nous venons de nommer, les taches de végétations ont la forme et la grandeur de très petites têtes d'épingles et une couleur jaune gris clair; quelquefois elles ont l'aspect de la cire, la surface peut en être sèche ou un peu brillante; le bord vu sous un faible grossissement, en est assez nettement délimité ou velu. Toutes ces différences peuvent se montrer chez une seule et même espèce et dans la même culture, et varient suivant que les taches se sont développées dans une couche plus épaisse ou plus mince de gélatine.

Les taches du Mycoderma vini et du Mycoderma cerevisiæ, comme aussi de quelques espèces voisines, diffèrent assez des précédentes. Ces taches complètement développées sont en effet gris clair, à surface sèche et étendues comme des membranes, souvent creusées en forme de coupe. Tant qu'elles sont recouvertes par la gélatine, elles ressemblent aux taches des Saccharomyces, La couche de gélatine qui les recouvre est souvent si mince qu'il est très difficile de la découvrir, de sorte qu'on peut facilement être induit en erreur et croire qu'on a affaire avec une espèce autre que celle qui se trouve dans les taches déjà décrites.

Dans la couche de gélatine de l'une des lames de verre couvre-objet, il peut se développer 60 taches de végétations, et même en supposant, ce qui arrive quelquefois, qu'on n'en puisse employer que la moitié, une seule chambre suffit donc pour donner un grand nombre de cultures pures.

4. **Transport des cultures pures des taches dans un liquide nourricier:** Pour cette opération encore plus que pour les précédentes, il importe que l'air soit pur et en repos et les appareils complètement stérilisés. Les préparatifs généraux sont les mêmes. Il faut avoir sous la main une paire de pinces avec les fils de platine décrits plus haut et, en tant qu'on emploie plus d'une tache de la même lame couvre-objet, un nombre convenable de petites cloches avec leurs plaques de verre. Pour la culture dans un liquide nourricier, on se sert en général au laboratoire des ballons à deux cols de Pasteur ($^1/_8$ de litre) avec du moût houblonné stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball.). La Fig, 3 représente, à une échelle reduite, un de ces ballons reposant sur un support en liège. Le tube mince est fermé à son extrémité avec un bouchon d'asbeste; au tube droit est adapté un tuyau en caoutchouc qui est fermé avec un bouchon en verre. S'il ne s'agit d'obtenir une culture pure que d'une seule espèce, on emploie 4—5 de ces ballons. Ce grand nombre a pour but de mettre l'opérateur à même d'obtenir une sorte de contrôle, en comparant les végétations développées dans les ballons, et de s'assurer qu'on obtient une végétation des cellules semées. Par accident il peut en effet entre autres arriver qu'un des ballons soit infecté par un organisme étranger, ou qu'il ne s'y développe aucune végétation, par ex. si

le fil de platine employé pour l'infection était trop chaud.

Les chambres sont examinées au microscope; on cherche les végétations dont les origines ont été vérifiées à l'avance pour avoir la certitude que les taches à employer proviennent chacune d'une seule cellule. Avec un pinceau fin et un peu de couleur blanche, on délimite ensuite sur la lame couvre-objet les taches qui ont été choisies; a-t-on en commençant l'essai employé l'appareil de Klönne & Müller, c'est naturellement superflu.



Fig. 3.

Une des lames couvre-objet est ensuite détachée de son anneau et placé, les taches tournées en haut, de préférence sur un fond obscur pour qu'elles ressortent bien distinctement. A l'aide d'une des pinces, on prend de la main droite un fil de platine et, après l'avoir passé rapidement dans la flamme d'une lampe voisine à gaz ou à esprit de vin, touche une des taches choisies. Si la lame couvre-objet doit être employée plus souvent, il faut naturellement chaque fois la recouvrir d'une petite cloche. De la main gauche on enlève le tuyau en caoutchouc d'un des ballons Pasteur, et, au même instant, porte de l'autre main le fil de platine infecté dans l'ouverture dénudée du tube, où on le laisse tomber. Le tube est ensuite incliné autant que cela peut se faire sans que liquide sorte, et amené en même temps dans la flamme, où il est réuni au tuyau en caoutchouc. Au lieu du ballon ci-dessus décrit, on peut aussi employer le modèle de Chamberland (Fig. 2 pag. 96) ou de Salomonsen; celui-ci a une ouverture plus étroite et, au lieu du capuchon en verre, un tuyau en caoutchouc, dont la partie supérieure est remplie de coton stérilisé; dans quelques cas, ces derniers ballons peuvent même être à préférer. Dans certaines occasions, on se servira également avec avantage des flacons représentés Fig. 4 en les fermant avec deux couches de papier à filtrer stérilisé. Pour les recherches sur les levûres alcooliques, une expérience de plusieurs années m'a montré que les ballons Pasteur sont en général les meilleurs. La question, dans tous les cas, est de travailler avec sûreté et aussi rapidement que possible. Pour ne pas agiter l'air plus que nécessaire, on attend pour secouer les ballons infectés qu'ils soient tous prêts. En ce qui concerne le ballon Pasteur, il faut en même temps qu'on le secoue faire rougir le tube mince recourbé, comme autrement on n'a aucune certitude que l'air qui y pénètre soit stérilisé. L'examen des chambres, le choix des taches microscopique et l'infection de 5 ballons avec ce qui s'y rapporte prennent env. 1 heure.



Fig. 4.

Après avoir été munis d'étiquettes, les ballons sont placés dans un thermostat à 25—28 ° C. Dans le cours de 1—2 jours on observe un

développement bien marqué, et au bout de 2 jours, la fermentation est ordinairement en pleine activité, et il s'est formé une quantité assez grande de levûre. Cette règle s'applique bien surtout aux Saccharomyces, mais en somme aussi à la plupart des espèces nommées dans ce mémoire; cependant le Mycoderma vini, le Myc. cerevisiæ et plusieurs formes voisines ne donnent pas lieu, comme on sait, à de pareils phénomènes de fermentation.

Jusqu'au moment où l'on ouvre les chambres, cette méthode se distingue par son absolue certitude, mais avec l'ouverture des chambres commence en même temps l'incertitude, car une infection provenant des vêtements de l'opérateur, de l'air, etc. devient alors possible et d'autant plus dangereuse qu'on n'a pas encore obtenu une culture en grand de cellules vigoureuses pour soutenir, au besoin, la concurrence contre des rivaux étrangers. Sous ce rapport, la méthode est inférieure à celle que j'avais d'abord élaborée (pag. 94). Le plus sûr sera donc de n'employer qu'une seule tache de chaque lame de verre couvre-objet.

Mais, pour ne pas non plus travailler ici au hasard et en aveugle, on peut, pendant le temps employé á infecter les ballons, placer à côté quelques flacons ouverts à large goulot et renfermant du moût stérilisé comme les ballons, puis, quand ceux-ci sont prêts, les fermer en les coiffant de deux couches de papier à filtrer stérilisé et les mettre ensuite dans le thermostat à 25—28 ^{0} C. De cette manière on est renseigné sur le contenu de l'air, pendant le temps dont il s'agit, en microorganismes pouvant se développer dans le liquide nourricier employé. Dans mon mémoire cité plus haut, j'ai déjà montré qu'en général ce danger ne sera pas grand si l'on travaille dans une pièce propre et un air tranquille. Plus tard il a été fait un assez grand nombre d'analyses suivant la méthode ici décrite, et elles ont donné pour résultat que, sur 3 flacons, il y en avait en moyenne 2 d'infectés. Cette infection était due exclusivement au Penicillium glaucum; dans aucun cas je n'ai trouvé de bactéries ni de cellules de levûre.

5. **Examen des végétations des ballons et choix de la ou des espèces qu'on veut avoir:** Il a été dit plus haut qu'en remplissant les conditions que j'ai indiquées, on obtiendrait une culture en grand au bout de 2 jours env. En tant que, dans le transport des cellules des taches dans les ballons, on a pu éviter toute infection étrangère, chaque ballon renfermera aussi une culture pure. Les flacons cidessus mentionnés, de même que les analyses dont il sera question plus bas, peuvent fournir quelques renseignements sur ce point faible de la méthode. De chaque ballon on prend maintenant, avec tout le soin nécessaire, un échantillon qui est examiné au microscope. Les ballons dont les cellules sont semblables renfermeront aussi souvent la même espèce. Mais ici il faut se rappeler que les différences qui, dans les conditions indiquées, peuvent se présenter, sont en général petites et exigent pour être remarquées un œil très exercé. L'examen microscopique à lui seul n'offre pas une garantie suffisante; il faut le combiner avec les autres moyens de contrôle dont on dispose, botaniques ou chimiques. Comme on le voit par mes mémoires, le développement des ascospores et les végétations des voiles jouent un rôle important dans l'analyse des Saccharomyces.

Nous avons montré comment on peut, d'une manière sure et relativement facile, obtenir des cultures pures de Saccharomyces et de microorganismes analogues. Naturellement, il sera toujours possible d'apporter des modifications à ces méthodes; mais, dans tous les cas, le problème à résoudre restera le même. Dans ce qui précède, j'ai communiqué les résultats de l'expérience acquise par un travail de plusieurs années dans le laboratoire de Carlsberg. J'ai principalement insisté sur ce point, que chaque travail doit être exécuté avec sûreté et sous un contrôle constant. D'après le modèle que M. Pasteur, plus que tout autre, a donné dans ces ouvrages, et que tous ceux qui ont visité son célèbre laboratoire ont vu réalisé, j'ai cherché à montrer combien il importe de travailler avec soin et précaution, et que toute faute à cet égard s'expie.

Bien que ces communications, d'après leur nature, s'adressent surtout à des commençants, je suppose cependant aussi que l'expérimentateur plus exercé pourra en retirer quelque profit, et pour mes élèves elles seront un souvenir de mes leçons.

Il reste à expliquer comment on emploie les petites portions obtenues de levûre absolument pure pour produire les grandes masses que consomme l'industrie, comment on procède au choix d'une race convenable, et comment elle doit être traitée pour qu'on puisse obtenir tout de suite un résultat favorable. Je dois cependant remettre à une autre fois de donner une communication détaillée là dessus, et me borner à me référer à ce que j'ai déjà publié sur ces questions. La raison en est que, sous ce rapport, de nouvelles améliorations seront, je l'espère, prochainement introduites dans la brasserie de Vieux Carlsberg. Pendant l'année 1885, M. Kühle, directeur de la brasserie, et moi, nous avons travaillé á faire installer dans la cave même à fermentation un appareil pour la fabrication continue et en grand d'une levûre absolument pure, de manière que tous les 10 jours env. une grande portion de cette levûre soit livrée à la brasserie. La levûre ayant déjà servi et qui est un peu infectée sera ainsi, à de courts intervalles, remplacée par de la levûre absolument pure. Mais ces essais n'étaient pas encore terminés lorsqu'en novembre 1885 j'ai achevé ce mémoire. Les lecteurs qui déjà maintenant voudraient savoir comment on produit la levûre pure à l'usage de l'industrie, pourront en attendant consulter les remarques à ce sujet qui se trouvent dans mes mémoires, notamment dans Zeitschr. für das gesammte Brauwesen, München 1884, p. 273, et les renseignements qui, en partie d'après mes communications verbales, ont été publiés plus tard dans différentes revues zymotechniques, en particulier par MM. Aubry, Bělohoubek, Jörgensen et Will.

C'est en 1883 que j'ai commencé sur une grande échelle mes essais pratiques avec de la levûre pure, et que j'ai été autorisé par M. le capitaine Jacobsen, propriétaire des célèbres brasseries de Vieux Carlsberg et fondateur du laboratoire, à l'introduire dans sa fabrication. Lorsque les premières difficultès eurent été surmontées, et que M. Jacobsen se fut assuré qu'il s'agissait ici d'un véritable progrès, il l'appuya énergiquement

de sa grande autorité universellement reconnue. Malgré la méfiance avec laquelle beaucoup de brasseurs même intelligents accueillirent la levûre pure, elle fut cependant essayée en relativement peu de temps dans la plupart des pays producteurs de bière, et, pour le moment, elle est introduite comme un élément fixe de l'exploitation non seulement dans toutes les grandes brasseries danoises, mais aussi dans un très grand nombre de brasseries de l'étranger. Que, malgré l'opposition soulevée par la station d'essais de l'école Royale d'agriculture de Berlin, elle se soit cependant répandue rapidement dans les pays plus renommés pour la fabrication de la biére basse, l'Allemagne et l'Autriche, c'est là un résultat dont tout l'honneur revient au laboratoire de M. Aubry, à Münich.

VI.

LES VOILES CHEZ LE GENRE SACCHAROMYCES.

(PREMIER MÉMOIRE. AVEC LES PLANCHES I—VIII).

OBSERVATIONS GÉNÉRALES.

C'est un fait connu que la bière, le vin et autres liquides analogues se couvrent en général rapidement d'un voile, lorsqu'ils sont exposés dans un verre ouvert à l'action directe de l'air. Ces voiles peuvent être formés de différents microorganismes: Bactéries, Saccharomyces, cellules ressemblant à des Saccharomyces et moisissures. C'est tantôt une espèce, tantôt une autre qui prédomine, et le voile en reçoit aussitôt un cachet plus au moins particulier.

Dans les mémoires sur les bactéries, les moisissures et les levûres que j'ai publiés depuis 1878 dans ce recueil ou ailleurs, j'ai décrit successivement un grand nombre de formes qui produisent des voiles, et notamment donné des exemples d'une série d'espèces à cellules ressemblant à des Saccharomyces et différant plus au moins les unes des autres, qui forment des voiles analogues à ceux du Sacch. Mycoderma, et dont plusieurs du moins peuvent bien être déterminées par ce nom spécifique. Mais aucune de ces espèces ne développe les endospores si caractéristiques du genre Saccharomyces, et ne peut par conséquent y être rapporté. C'est ce que j'ai de nouveau vu confirmé en revoyant dernièrement mes recherches antérieures sur ce sujet. J'avais spécialement porté mon attention sur les formes produisant des voiles, qui apparaissent toujours avec tant de facilité sur la bière et qui, plus que toutes les autres, semblent être sous-entendues lorsqu'on nomme le nom spécifique de Sacch. Mycoderma. Sous ce nom systématique se cachent en réalité plusieurs espèces, et il n'a pas la même signification chez les différents auteurs.

Les formes auxquelles on applique surtout le nom de Sacch. Mycoderma se distinguent en ceci, qu'elles peuvent facilement et rapidement,

comme sans préparation, former des voiles sur plusieurs liquides organiques. Il ne semble pas que cette formation soit précédée d'aucune fermentation; cependant les cellules ne sont pas denuées de puissance fermentative. Leurs voiles ont du moins sur la bière et le moût un aspect sec et grisâtre; elles ont d'abord l'apparence d'une fine poussière, plus tard elles deviennent plus épaisses, se plissent ordinairement et prennent une couleur plus claire. Il y a un grand nombre de bulles d'air entre les cellules, et celles-ci, si on les sème dans un nouveau liquide nourricier, restent à la surface sans tomber au fond[1]).

D'autres espèces ressemblant à des Saccharomyces, par ex., la forme décrite dans mon mémoire sur les Torulas de M. Pasteur (voir le présent recueil, II Vol. 2 livraison, 1883, p. 49—50), forment aussi des pellicules qui rappellent beaucoup les précédentes, mais qui ne sont pas plissées. Les voiles formés par le Chalara Mycodorma et la Monilia candida en diffèrent davantage; chez le premier de ces organismes, ils ont en effet un aspect visqueux et un peu brillant et, chez le second, ils présentent des différences d'un autre genre.

Sous le nom de Monilia candida je désigne une moisissure qui, dans certaines phases de son développement, apparaît avec des cellules ressemblant à des Saccharomyces et remarquables surtout par leur propriété de provoquer, sans inversion préalable, la fermentation alcoolique dans une dissolution de saccharose, par conséquent de faire fermenter directement cette espèce de sucre. J'ai publié quelques communications à ce sujet dans la revue zymotechnique de Fasbender 1883 et dans les »Berichte der deutschen botan. Gesellsch.« 1884. Tandis que le voile du Mycod. cerevisiæ, dans une culture de moût, est formé sur-le-champ par les cellules semées à la surface, les cellules de la Monilia candida tombent au fond des ballons pour s'y multiplier comme levûre de depôt, pour provoquer la fermentation et enfin pour remonter de nouveau avec les bulles d'acide carbonique à la surface, où le voile se développe ensuite rapidement. De même que l'Oïdium lactis et plusieurs autres moisissures qui vivent à la surface des liquides, la Monilia candida peut aussi, dans un liquide nourricier convenable, développer une couche blanche, cotonneuse, qui diffère complètement de tous les autres voiles cidessus mentionnés (pour plus détails sur ces voiles, voir le texte danois, p. 168-- 171).

Des voiles d'une autre espèce que les précédents sont ceux de plusieurs des nombreuses levûres que M. Pasteur a appelées Torula, du Sacch. apiculatus et de tous les vrais Saccharomyces. La formation des voiles est en somme un phénomène très général dans le monde des microorganismes, et elle est aussi fréquente

---

[1]) Les cellules de levûre mycodermique mentionnées plus haut méritent évidemment une étude plus approfondie tant au point de vue théorique que pratique. Dans son intéressant mémoire »Ueber den Einfluss der Hefe auf die Qualität des Bieres« (Böhm. Bierbrauer, Prag 1885, p. 447), M. le professeur Bělohoubek appelle entre autres l'attention sur les masses considérables de bière qui annuellement sont gâtées par le Mycoderma cerevisiæ.

chez les bactéries que chez les champignons proprement dits et chez des formes appartenant à différentes divisions dans le système. On trouvera ci-après une description de la formation des voiles des levûres que nous venons de mentionner et des vrais Saccharomyces; elle est bien faite d'après des observations sur les Saccharomyces, mais, dans les limites de mes recherches, elle s'applique aussi en somme aux autres formes.

Expose-t-on, en ayant soin de ne pas les troubler, des cultures de Saccharomyces dans du moût stérilisé pendant un temps plus ou moins long à la température ordinaire d'un appartement, il apparaît successivement de petites taches de levûre tant sur les bords du liquide et contre les parois du verre que sur sa surface même; souvent elles se rassemblent pour former des lignes, des groupes et des ramifications réticulaires; à mesure qu'elles se développent, elles peuvent donner naissance à des îles assez grandes, dont la partie supérieure est assez plane et l'inférieure hémisphérique ou conique. Des îles en partie fusionnées et par conséquent peu cohérentes sont fréquentes. Plonge-t-on une baguette en verre dans une pareille masse, les différentes îles s'y déposent chacune séparément et on peut ainsi les pêcher pour les examiner plus à loisir. En continuant à croître, elles peuvent se réunir et finalement couvrir toute la surface d'un voile continu, qui souvent est accompagné au-dessus du liquide, sur les parois du verre, d'une ceinture entière de levûre. Les petites taches observées en premier lieu proviennent sans doute d'une seule cellule ou, tout au plus, de quelques cellules en très petit nombre qui, entraînées par le dégagement de l'acide carbonique, ont remonté à la surface. Cependant la formation proprement dite des voiles n'a lieu qu'à la fin de la fermentation principale et après la disparition de l'écume qui l'accompagne. Toutefois on peut avant ce moment observer des taches faiblement développées, pendant que la fermentation est encore assez active et qu'il se dégage en grand nombre des bulles d'acide carbonique. Il y a des ballons où les voiles commencent à se former le long du bord du liquide comme un anneau, d'autres où le développement part du centre de la surface et de là se poursuit dans toutes les directions.

Dans ces conditions, on n'observe qu'un faible développement chez le Sacch. apiculatus et chez plusieurs formes des Torulas, tandis qu'il est très marqué chez les vrais Saccharomyces. Lorsque nos cultures sont restées en repos pendant quelques semaines sans être secouées, la surface du liquide est d'ordinaire plus ou moins complètement couverte d'un voile épais et entouré d'une large ceinture de levûre. On trouve souvent dans celle-ci une masse épaisse de levûre d'un gris jaune clair et d'un aspect mucilagineux; il en est de même de la membrane. Exceptionnellement, elle peut cependant aussi paraître plus sèche et ressembler par là aux membranes ci-dessus mentionnées du Mycoderma cerevisiæ. Elle est en général unie, plus rarement inégale et comme semée de petits tertres; dans ce dernier cas, elle avait souvent aussi un aspect cartilagineux. En s'épaississant, le voile et la ceinture de levûre prennent en même temps une teinte plus claire. Si l'on examine des voiles vieux et épais de Saccharomyces, on voit, surtout en secouant les ballons, qu'il s'en détache des fragments plus ou moins grands qui tombent au

fond, où il peut s'en former peu à peu toute une couche. Mais la partie restante plus au moins déchirée du voile peut se réparer elle-même et remplir peu à peu le vide produit; il n'est pas rare alors qu'il soit marbré de parties épaisses et plus claires, les plus anciennes, et de parties minces plus foncées, celles de formation récente. L'aspect de ces fragments et de ces grumeaux épais et mucilagineux rappelle beaucoup la formation des Zooglées chez les bactéries.

Parmi les nombreuses espèces de Saccharomyces dont j'ai étudié les voiles, se trouvent aussi les six sur lesquelles j'ai publié une série de recherches dans mes mémoires antérieurs. Ce sont principalement ces espèces que javais en vue dans la description qui précède.

En examinant leurs voiles au microscope, on s'aperçoit bientôt que les végétations peuvent y être assez différentes pour une seule et même espèce; c'est ce que montrent les Fig. 3, Pl. III—VIII. Ces figures représentent six groupes de cellules, chacun appartenant à une espèce et provenant tous de voiles formés dans des cultures poursuivies, pendant plusieurs mois, dans des ballons Pasteur à deux cols (Fig. 3, pag. 102) avec du moût houblonné stérilisé (env. 14 $^0/_0$ Ball.), à la température ordinaire d'un appartement. Les cellules semées sont représentées sur les Pl. I—II; ces six groupes de figures nous montrent les végétations de nos six espèces, telle qu'elles se développent à cette même température, dans de la jeune levûre de dépôt dans les cultures de moût ci-dessus mentionnées, lorsque le liquide nourricier est renouvelé plusieurs fois à de courts intervalles. En infectant de cette levûre des ballons avec du moût, mais qui sont ensuite exposés pendant 24 heures à la température de 26 ^{0} C., on obtient de la levûre de dépôt, dont les cellules ont un aspect semblable et présentent la même image. Les figures des Pl. I et II nous montrent en un mot des végétations jeunes et vigoureuses dans de la levûre ordinaire de dépôt, telles que je les employais pour infecter les ballons dans lesquels se développaient plus tard des voiles.[1]) Nous allons maintenant examiner de plus près les voiles dont il s'agit.

La Fig. 3, Pl. III, représente l'espèce désignée provisoirement sous le nom de Sacch. cerevisiæ I. Comme le montre la figure, quelques cellules sont isolées, tandis que d'autres sont réunies en colonies plus ou moins ramifiées, dont les éléments peuvent être ovales, en forme de boudin court ou très allongés; dans ce dernier cas, les colonies rappellent un peu un mycelium. Quelques cellules ressemblent à celles qui

---

[1]) On trouvera une description de ces six espèces dans mon mémoire »Les ascospores chez le genre Saccharomyces« (Résumé du compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2 livraison, Copenhague 1883, p. 32—33).

ont été semées (Fig. 1, Pl. I), mais elles ont en général pris une forme plus allongée et souvent aussi irrégulière. Les bourgeons, dans plusieurs cas, se comportent également d'une autre manière que chez la levûre ordinaire de dépôt. Cependant le plus remarquable, c'est que nous avons ici une espèce dont la forme habituelle de la levûre de dépôt, d'après le système jusqu'ici en usage, doit être regardée comme celle d'un Sacch. cerevisiæ type, mais dont le voile est composé de cellules entièrement différentes et ayant la même forme que celles d'un Sacch. Pastorianus bien caractérisé. Relativement à cette espèce comme aux suivantes, nous devons faire observer qu'un examen détaillé des figures donne, mieux que toute description, une représentation des rapports et des différences qui existent entre elles.

Dans la Fig. 3, Pl. IV, est répresentée une végétation correspondante du Sacch. Pastorianus I. On trouve également ici des cellules de la même forme que celles qui ont servi à l'ensemencement (Fig. 2, Pl. I); elles sont cependant en général plus petites, et il y en a parmi elles qui sont plus allongées et de forme baroque, quelquefois presque filiformes. Les colonies sont moins peuplées que chez l'espèce précédente.

La Fig. 3, Pl. V, représente le Sacch. Pastorianus II. Les remarques sur l'espèce précédente sont aussi en somme applicables à celle-ci (comp. la figure citée avec celle des cellules de l'ensemencement, Fig. 3, Pl. I).

La troisième espèce de ce groupe, le Sacch. Pastorianus III, est représentée Fig. 3, Pl. VI. Les cellules en forme de boudin et filiformes, souvent réunies en colonies remifiées et enchevêtrées, sont ici très prédominantes; piusieurs cellules ressemblent plus à des formes de bactéries qu'à des Saccharomyces. Il s'est en somme opéré une transformation très frappante (comp. les cellules de l'ensemencement, Fig. 1, Pl. II). Cependant on trouve aussi, comme à l'ordinaire, des cellules ressemblant à celles de l'ensemencement.

Dans la Fig. 3, Pl. VII, on voit des exemples d'une pareille végétation due au Sacch, ellipsoïdeus I. Le développement de colonies formées de cellules en forme de boudin, courtes et allongées, est ici ce qu'il y a de plus caractéristique. Les ramifications sont souvent verticillées ou opposées. On observe aussi des cellules de forme baroque. minces et très allongées, et d'autres de la même forme que celles de l'ensemencement (Fig. 2, Pl. II). Très frappante est la transformation qui a eu lieu: le Sacch. ellipsoïdeus type caractérisé dans sa forme de levûre de dépôt par ses cellules ovales, est devenu dans sa forme de voile un des Sacch. Pastorianus du système.

La dernière de mes six espèces, le Sacch. ellipsoïdeus II, présente un changement de forme principalement dans le même sens. Les cellules de l'ensemencement sont représentées Fig. 3, Pl. II, et celles du voile, Fig. 3, Pl. VIII.

Dans toutes les Fig. 3 des planches III—VIII, nous trouvons des exemples de formes irrégulières, comme aussi du fait q'une cellule mère a donné naissance à une couronne ou à un arbuste de bourgeons plus ou moins serrés les uns contre les autres. Cette forme de bourgeonnement n'est rare chez aucune des six espèces, et c'est seulement par l'effet

du hasard que les figures en donnent si peu d'exemples. Elle rappelle beaucoup la forme dont M. Reess a fait une espèce sous le nom de Sacch. conglomeratus. Un grand développement de cellules allongées, isolées et en colonies, ne s'est produit que dans les vieilles cultures, et le rapport entre ce développement et celui de cellules ovales et en forme de boudins courts a en général été variable, comme, de ces deux espèces de cellules, tantôt l'une tantôt l'autre était prédominante. Les figures ont été dessinées d'après les résultats de nombreuses cultures comparés ensuite avec ceux de plusieurs autres, et reproduisent les principales formes qui ont été observées. (Relativement à d'autres détails tant ici qu'ailleurs, voir le texte danois).

En comparant les six formes de voiles que nous venons d'examiner, on trouve qu'elles ont toutes dévéloppé des cellules plus allongées, et, en général aussi, des colonies plus complexes que les cellules ayant servi à l'ensemencement. Cette différence est surtout marquée chez le Sacch. cerevisiæ I et les Sacch. ellipsoïdeus I et II, dont les voiles, comme on l'a vu, assignent à ces trois espèces une tout autre place dans le système que leurs formes comme levûres du dépôt. Le Sacch. Pastorianus III se fait remarquer par son développement de cellules très allongées, souvent filiformes et ressemblant à des bactéries. Le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. Pastorianus II ont entre eux la plus grande ressemblance; il y en a également beaucoup entre le Sacch. ellipsoïdeus I et le Sacch. ellipsoïdeus II. Malgré la ressemblance entre nos six espèces, un examen plus attentif fait cependant découvrir des différences; mais elles sont d'une nature si difficile et si fine qu'on ne peut, à vrai dire, en donner d'autre expression que celle que nous montrent les groupes des figures, et prend-on les diverses cellules isolément, toutes les limites disparaissent. Ces indications, tout obscures qu'elles fussent, n'étaient cependant pas sans importance pour moi. En effet, dans mes recherches sur les microorganismes, je me suis, dès l'origine, toujours efforcé de trouver des caractères chez les formes sur lesquelles j'expérimentais, afin d'obtenir par là des points de départ fixes. Un des problèmes qui m'ont le plus occupé a ainsi été la question fondamentale et de nos jours si brûlante des espèces et de leur délimitation, et c'est ce qui a donné à mes travaux leur cachet botanique si marqué. C'est également surtout à ce point de vue que j'ai commencé les recherches exposées ici. Les observations ci-dessus mentionnées une fois terminées, la question pouvait recevoir une forme plus déterminée et être soumise à un traitement expérimental. On en trouvera les résultats les plus importants dans le chapitre suivant. Comme à l'ordinaire, dans le cours du travail principal il s'est ouvert de nouvelles voies indirectes; je donnerai également quelques renseignements à ce sujet.

EXPÈRIENCES.

En tant que, pour le moment, s'étendent nos connaissances, nous devons admettre que c'est une condition commune pour toutes les formations de voiles mentionnées dans le chapitre précédent, que les microorganismes sur lesquels on opère doivent avoir directement accès à l'air atmosphérique, et que l'afflux doit en être abondant pour que les voiles puissent se développer avec rapidité. C'est ce que confirment les essais faits avec des Saccharomyces. Prend-on, par ex., une série de ballons Pasteur exactement du même modèle, renfermant chacun une égale portion du même moût stérilisé, et, après les avoir infectés avec une levûre très susceptible de développer un voile, le Sacch. ellipsoïdeus II par ex., en plonge-t-on la moitié dans l'eau avec leur tube recourbé, de manière à les isoler du contact de l'air et à forcer l'acide carbonique provenant de la fermentation à se dégager à travers l'eau, on trouvera qu'il s'y forme bien après quelque temps un voile, mais qu'il se développe plus lentement et avec bien moins d'énergie que dans les ballons non isolés du contact de l'air. Dans les mêmes conditions, le développement des membranes est plus rapide dans les ballons Chamberland (Fig. 2, p. 96) que dans les ballons Pasteur, et encore plus rapide et plus marqué lorsqu'on se sert des flacons représentés p. 102 et coiffés de deux couches de papier à filtrer stérilisé. En outre, comme il est facile, dans ces flacons, de prendre des échantillons en un point quelconque des voiles sans beaucoup les troubler, je les ai employés de préférence pour mes essais, et, en l'absence d'autre indication, c'est toujours eux que j'ai en vue. Ils avaient chacun une capacité de 142 c. c. et renfermaient 70 c. c. de moût houblonné clair stérilisé (env. 14 % Ball,). tel qu'on le trouve ordinairement dans les brasseries à fermentation basse. C'est ce liquide nourricier dont je me suis le plus fréquemment servi dans mes expériences sur les fermentations, et qui est si souvent mentionné dans mes mémoires. Les cellules destinées à l'ensemencement ont été préparées de la même manière que pour mes recherches sur la production des ascospores, et comprenaient les mêmes six espèces. Après que les cellules sur lesquelles on opérait avaient été cultivées quelque temps dans le moût à la température ordinaire d'un appartement, on en transportait un petit nombre, jeunes et vigoureuses. dans un nouveau moût de la même nature que le précédent, et les cultivait à 26—27 ° C. pendant 24 heures env. Le liquide en fermentation était alors décanté et une égale portion du même moût versé sur le précipité de levûre, après quoi on secouait les ballons pour obtenir une égale répartition des cellules. Quelques gouttes de ce mélange étaient ensuite semées dans chacun des flacons ci-dessus décrits. Il va sans dire que tous ces travaux étaient exécutés de manière à éviter toute infection du dehors.

Avant d'aller plus loin, il est bon de jeter un coup d'œil sur les cellules qui ont servi de points de départ aux expériences; elles sont représentées Pl. I et II dans l'ordre où les espèces ont été traitées, tant dans ce mémoire que dans les précédents.

La Fig. 1, Pl. I, représente le Sacch. cerevisiæ I; il se compose en majeure partie de grandes cellules rondes et ovales, sans cellules allongées proprement dites.

Les cellules du Sacch. Pastorianus I (Fig. 2, Pl. I) ont en somme un autre aspect; elles sont d'ordinaire allongées en forme de boudin, mais parmi elles on trouve aussi, quoique seulement comme mélange secondaire, des cellules rondes et ovales plus ou moins grandes dont beaucoup ressemblent à l'espèce précédente, Ce qui est dit du Sacch. Pastorianus I s'applique aussi aux autres espèces du même groupe, le Sacch. Pastorianus II (Fig. 3, Pl. I) et le Sacch. Pastorianus III (Fig. 1, Pl. II). Dans les essais de cultures dont il s'agit, ils sont en somme tous les trois presque identiques. Les différences, comme le montre un coup d'œil jeté sur les figures, sont en tout cas très petites.

Le Sacch. ellipsoïdeus I (Fig. 2, Pl. II), en ce qui concerne la forme, est très voisin du Sacch, ellipsoïdeus II (Fig. 3, Pl. II); ces deux espèces se distinguent par la prédominance des cellules rondes et ovales; elles ont aussi l'une et l'autre des cellules en forme de boudin, mais qui, en général, ne sont guère aussi nombreuses que le montrent les figures.

Compare-t-on maintenant entre eux les 6 groupes de cellules représentés sur les Pl. I et II, on trouve qu'il est assez facile d'y distinguer 3 divisions, dont la première comprend le Sacch. cerevisiæ I, la deuxième les 3 espèces du groupe Sacch. Pastorianus et la trosième, les 2 espèces du groupe Sacch. ellipsoïdeus. Cela n'est vrai cependant que pour les cultures pures et dans les conditions d'existence mentionnées plus haut.

Comme les espèces ainsi cultivées pendant des années et à travers des générations sans nombre, sous les mêmes influences extérieures, ont constamment montré les mêmes différences, cela indique une différence chez les cellules mêmes, quelque chose qui leur est propre. Les conditions d'existence viennent-elles à changer, les choses, comme on le verra dans ce qui suit, se passent autrement. J'ai déjà, dans des travaux antérieurs, montré l'influence des facteurs extérieurs sur le développement de la forme des cellules[1]); nous ferons maintenant, dans un nouveau domaine, plus intime connaissance avec la grande variabilité qui peut s'y manifester, variabilité si grande que tout semble être fluide. L'observateur attentif en aperçoit cependant les limites et distingue le stable dans l'instable. Nous nous efforcerons de trouver les lois de ce courant de métamorphoses que les expériences déterminent.

Les cultures ci-dessus décrites des six espèces une fois semées chacune dans un flacon contenant du moût. les flacons étaient de nouveau coiffés convenablement de papier à filtrer et exposés aussitôt dans un thermostat à une série de températures décroissantes. On avait soin

---

[1]) Voir notamment mon mémoire sur la formation des ascospores p. 42. J'y fais voir comment le Sacch. cerevisiæ (forme de levûre basse de la bière), après un certain traitemeut, développe à 27° C. des cellules à l'aspect typique normal, mais à $1^1/_2$° C. des colonies enchevêtrées avec des ramifications ressemblant à du mycelium.

que, peu de temps avant l'infection, ils eussent la température voulue. Comme point de départ commun pour l'examen microscopique, on étudiait toujours les premières traces de la formation des voiles, dès qu'ils étaient assez distincts pour pouvoir être observés avec certitude à l'œil nu. Les végétations en provenant sont représentées Fig. 1 et 2, Pl. III—VIII. Les végétations qui se sont produites après un long délai ont aussi été étudiées, et les résultats en sont également indiqués. Chaque espèce a été l'objet d'un grand nombre d'essais. Voici les résultats auxquels je suis arrivé.

Sacch. cerevisiæ I.

(Pl. III, Fig. 1—3).

A 38 ° C. aucune formation de voile.
- 33—34 ° C au bout de 9—18 jours, taches faiblement développées. avec une végétation comme .... Fig. 2.
- 26—28 ° C. au bout de 7—11 jours - .... Fig. 2.
- 20—22 ° C. — 7—10 jours - .... Fig. 2.
- 13—15 ° C. — 15—30 jours - .... Fig. 1.
- 6—7 ° C. — 2—3 mois - .... Fig. 1.
- 5 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus I.

(Pl. IV, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 8—15 jours - .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 15—30 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2, cependant sans grandes colonies.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus II.

(Pl, V, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 8—15 jours - .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 10—25 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. Pastorianus III.

(Pl. VI, Fig. 1—3).

A 34 ° C. aucune formation de voile.
- 26—28 ° C. au bout de 7—10 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. au bout de 9—12 jours — .... Fig. 1.
- 13—15 ° C. — 10—20 jours — .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois — .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois — .... Fig. 2, cependant sans colonies fortement développées.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. ellipsoïdeus I.

(Pl. VII, Fig. 1—3),

A 38 ° C. aucune formation de voile.
- 33—34 ° C. au bout de 8—12 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 26—28 ° C. au bout de 9—16 jours - .... Fig. 1.
- 20—22 ° C. — 10—17 jours - .... Fig. 1, cependant en général avec une tendance vers.. Fig. 2.
- 13—15 ° C. au bout de 15—30 jours comme .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 2—3 mois - .... Fig. 1.
- 5 ° C. aucune formation de voile.

Sacch. ellipsoïdeus II.

(Pl. VIII, Fig. 1—3),

A 40 ° C. aucune formation de voile.
- 36—38 ° C. au bout de 8—12 jours, taches faiblement développées avec une végétation comme .... Fig. 1.
- 33—34 ° C. au bout de 3—4 jours - .... Fig. 1.
- 26—28 ° C. — 4—5 jours - .... Fig. 1 et 2.
- 20—22 ° C. — 4—6 jours - .... Fig. 1 et 2.
- 13—15 ° C. — 8—10 jours - .... Fig. 2.
- 6—7 ° C. — 1—2 mois - .... Fig. 2.
- 3—5 ° C. — 5—6 mois - .... Fig. 2.
- 2—3 ° C. aucune formation de voile.

Dans l'exposé qui précède de mes recherches sur la formation des six espèces de voiles à différentes températures, les figures jouent un rôle très essentiel. Elles ont été exécutées en partie par moi-même, en partie par mon aide, M. Holm, et dessinées d'après nature. J'ai attaché de l'importance à ce qu'elles donnassent une idée aussi complète qu'exacte des formes sous lesquelles se montre chaque espèce dans les conditions indiquées; il ne peut naturellement être question d'épuiser la matière, car les cellules de chaque espèce peuvent, jusque dans la même

culture, présenter une infinité de petits changements de forme, et il s'agissait donc seulemeut de saisir les traits prédominants et de les fixer. Dans ce qui suit, nous jetterons d'abord un coup d'œil sur l'ensemble des formes de voiles de chaque espèce, et comparerons ensuite entre elles les six espèces pour voir quels sont les enseignements qu'on peut retirer de cette comparaison.

Nous commencerons, comme d'habitude, par le Sacch. cerevisiæ I. La Fig. 2, Pl. III, en représente, on se le rappelle, la végétation à des températures plus élevées (20—34 ⁰ C.). En la comparant avec la semence (Fig. 1, Pl. I), on voit que les colonies sont devenues plus nombreuses et que les cellules en forme de boudin ou de forme un peu baroque ne sont pas rares. Les végétations, aux températures de 15—6 ⁰ C., ont une ressemblance plus grande avec la semence (Fig. 1, Pl. III).

Le Sacch. Pastorianus I, dans les cultures à 20—28 ⁰ C. (Fig. 1, Pl. IV), est assez semblable à la semence (Fig. 2, Pl. I); cependant les cellules sont en général plus petites et plus fluettes (dans la Fig. 1, quelques-unes des cellules allongées ne sont pas bien dessinées). Au-dessus de 15 ⁰ C., elles devenaient d'ordinaire plus grandes et plus vigoureuses, et à 13—15 ⁰ C. apparaissaient généralement des colonies fortement développées, ressemblant à du mycelium (Fig. 2, Pl. IV). Comme d'habitude, on a observé dans les différentes cultures de cette espèce, de même que des autres, quelque variation dans le rapport entre les cellules ovales et les cellules courtes en forme de boudin, d'une part, et les colonies ci-dessus mentionnées, de l'autre.

Chez le Sacch. Pastorianus II, les végétations à 20—28 ⁰ C. (Fig. 1, Pl. V) ressemblent aussi à la semence (Fig. 3, Pl. I); particulières sont seulement les cellules baroques en forme de boudin qui se développent ici assez souvent. A 15—3 ⁰ C,, par contre, les végétations (Fig. 2, Pl. V) renferment en grande majorité des cellules rondes et ovales et ont ainsi perdu leur type pastorien.

Le Sacch. Pastorianus III a, nous l'avons vu, développé à 20—28 ⁰ C. des végétations qui, de même que les précédentes, ressemblent assez à la semence (comp. Fig. 1, Pl. VI, avec Fig. 1, Pl. II). Mais, à 15—3 ⁰ C., elles en diffèrent nettement par leurs colonies fortement développées de cellules allongées en forme de boudin et filiformes (Fig. 2, Pl. VI), par quoi elles se rapprochent beaucoup des cellules des vieux voiles de la Fig. 3. C'est cette espèce dont les colonies ont la plus grande ressemblance avec un vrai mycelium.

Le Sacch. ellipsoïdeus I, à 20—34 et 6—7 ⁰ C,, a des cellules en forme de boudin plus petites et relativement plus nombreuses (Fig. 1, Pl. VII) que la semence (Fig. 2, Pl. II). A 13—15 ⁰ C. ses végétations se distinguent par leurs colonies richement ramifiées et fortement développées de cellules en forme de boudin courtes ou allongées, souvent avec des rameaux verticillés, complètement différentes de la semence et ressemblant aux vieilles cultures Fig. 3. C'est une des plus intéressantes métamorphoses que les expériences aient provoquées.

Dans le Sacch. ellipsoïdeus II, nous avons une espèce qui a cela de caractéristique que les cellules des voiles, dans les premières phases, ont a peu près la même forme à toutes les températures depuis 3 jusqu'à

38⁰ C. (Fig. 1 et 2, Pl. VIII), et en somme elles ressemblent également à celles de la semence (Fig. 3, Pl. II); elles sont seulement en général plus petites. A 15⁰ C. et aux basses températures, elles étaient peut-être un peu plus allongées qu'à des températures plus élevées.

Ces voiles du Sacch. cerevisiæ I, du Sacch. Pastorianus II et du Sacch. ellipsoïdeus II ne renferment pas les colonies fortement développées de cellules allongées ressemblant à du mycélium qui sont reproduites sur les Fig. 3 des planches correspondantes, et qui, on se le rappelle, représentent les voiles vieux de plusieurs mois cultivés dans des ballons Pasteur à la température ordinaire d'un appartement. C'est seulement après que la culture a été continuée plusieurs jours ou plusieurs semaines au-delà du temps indiqué dans les tableaux que ce développement se produit; il n'est par suite pas difficile de séparer ces deux phases l'une de l'autre. Par contre, des végétations ayant le même aspect que celles de ces vieilles cultures se trouvaient dès l'origine dans les voiles du Sacch. Pastorianus I et, à un plus haut degré encore, dans celles du Sacch. Pastorianus III et du Sacch ellipsoïdeus I. Chez toutes les espèces, une culture continuée pendant longtemps donne en général naissance à des végétations avec des cellules plus allongées, de sorte qu'apparaissent successivement pour chaque espèce les formes représentées sur les Fig. 3.

En s'approchant des températures limites, les végétations perdent de leur vigueur; tel est surtout le cas pour le développement aux températures plus élevées, où les cellules, au bout de très peu de temps, ont l'air d'être mortes. Des essais faits avec chaque espèce nous ont appris comment on peut, jusqu'à un certain degré, gouverner le développement et déterminer les changements de forme des cellules.

En considérant les six planches avec les végétations des membranes, on a aussitôt l'impression de se trouver en face d'un nombre aussi grand des levûres différentes; nous allons maintenant en faire une comparaison exacte et indiquer ensuite les principales différences.

Les Fig. 1 des planches IV, V, VI et VII ont entre elles une grande ressemblance; elles représentent, comme il a été dit plus haut, les trois espèces du groupe Pastorianus et le Sacch. ellipsoïdeus I. De ces figures se séparent assez nettement la Fig. correspondante 1, Pl. VIII, du Sacch. ellipsoïdeus II et la Fig. également correspondante 2, Pl. III, du Sacch. cerevisiæ I. Les végétations des voiles aux températures plus élevées ne nous sont donc que d'un faible secours pour distinguer les unes des autres de nos six espèces. Il en est tout autrement si nous considérons à leur origine les voiles qui se développent à 13—15⁰ C., et qui sont représentés Fig. 2, Pl. IV, V, VI, VII et VIII, et Fig. 1. Pl. III; ils nous montrent des différences frappantes entre plusieurs de ces espèces. Il est particulièrement important pour nous que le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III, qui tous deux sont des formes de fermentation haute, et dont les cellules de la semence (Fig. 3, Pl. I et Fig. 1, Pl. II) ne peuvent avec certitude être distinguées l'une de l'autre, apparaissent ici avec des végétations entièrement différentes (Fig. 2, Pl. V

et Fig. 2, Pl. VI); il en est de même des Saccharomyces ellipsoïdeus I et II, dont les cellules de la semence sont similaires. (Comp. Fig. 2, Pl. VII avec la Fig. 2 correspondante, Pl. VIII).

En joignant un examen microscopique des cellules semées à un examen analogue des cellules des voiles, nous pourrons donc déterminer nos six espèces par la forme des cellules. Il ne se présente de veritables difficultés que lorsqu'il s'agit de distinguer le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. Pastorianus II; il faut alors, dans les cas douteux, s'aider d'autres caractères. On se rappellera, d'après mes recherches antérieures, que la température maximum pour le développement des ascospores est un peu plus élevée chez le Sacch. Pastorianus I que chez le Sacch. Pastorianus II, et que le premier est une forme de fermentation basse, le second, au contraire, une forme de fermentation haute.

Les indications de temps dans les tableaux précédents ont seulement pour but de donner une idée approximative du temps qui s'écoule aux différentes températures avant l'apparition de formations macroscopiques distinctes de voiles. L'indiquer d'une manière tout à fait exacte n'est par la nature même des choses guère possible. Déjà dans l'écume qui se forme au commencement de la fermentation apparaissent les cellules de levûre, dont la multiplication, à mesure que l'écume disparaît, couvrira plus tard, plus ou moins vite ou lentement, la surface du liquide d'un voile; il n'y a pas de limites bien marquées dans la marche de ce développement, et les séries d'essais faites avec les mêmes espèces donnent aussi à cet égard des résultats un peu différents. D'un plus grand intérêt sont pour nous les températures minima et maxima, qui, comme le montrent les tableaux, sont différentes pour les différentes espèces. D'après ces minima et ces maxima, nos six espèces se laissent diviser en trois groupes.

En comparant les limites de températures trouvées dans mes recherches sur les ascospores avec celles dont il s'agit, on voit qu'elles sont différentes chez la même espèce. Le développement des ascospores et la formation des voiles ont cependant cela de commun, qu'ils dépendent tous deux des températures en ce sens que, dans les limites où ils peuvent avoir lieu, ils se produisent plus lentement aux basses températures et plus rapidement aux températures plus élevées. Aux températures voisines des minima et des maxima, le développement des voiles était toujours très faible, et elles ne couvraient jamais toute la surface du liquide.

Aux températures supérieures à 13° C. le Sacch. ellipsoïdeus II avait toujours le développement le plus rapide et le plus marqué, et c'était si frappant que, par là seulement, on pouvait toujours parmi les autres flacons reconnaître ceux qui renfermaient cette espèce; mais, aux températures inférieures à 13° C., il était un peu en arrière du Sacch. Pastorianus III. Un voile complet s'étendant comme une couche épaisse sur toute la surface du liquide s'est, chez le Sacch. ellipsoïdeus II par ex., formé au bout de 6—12 jours à 22—23° C., tandis que cette formation, chez les cinq autres espèces, exigeait plus du triple de ce temps,

en tant toutefois qu'elles se développaient avec la même énergie. A la chaleur ordinaire d'un appartement avec la température variable des différentes heures du jour, cette espèce se distinguait également par le développement rapide et vigoureux de son voile. Cependant, aux basses températures dont il s'agit, surtout pendant la nuit, le développement était plus lent qu'à la température ci-dessus mentionnée, et le Sacch. Pastorianus III pouvait rivaliser avec elle. Dans les recherches qui précèdent, nous ne nous sommes occupé que des formations de voiles à la surface même du liquide, et avons laissé de côté les végétations qui se développent au-dessus de ce dernier sur les parois mêmes du verre. Pour plus de détails, voir le texte danois, p. 185.

On voit par les tableaux p. 114—115 que la formation des voiles chez le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. ellipsoïdeus I s'arrête dans le voisinage de 38 et, chez le Sacch. ellipsoïdeus II, aux environs de 40 ° C., tandis que, chez les trois espèces du groupe Pastorianus, cet arrêt a lieu déjà au-dessous de 34 ° C. Ce fait est en connexion avec ce que j'ai indiqué dans un mémoire antérieur, à savoir que les températures maxima pour le bourgeonnement ne sont pas les mêmes pour les differentes espèces. Mais le bourgeonnement et la fermentation ont lieu au-dessus de la température à laquelle aucun voile ne peut se développer. Il résulte du texte danois (p. 186) qu'on s'est trompé en croyant pouvoir établir la règle que les levûres de fermentation haute peuvent se développer à des températures plus élevées que les levûres de fermentation basse. Inversement, il y a des levûres de fermentation haute qui, à de basses températures, se développent avec plus d'énergie que certaines levûres de fermentation basse (par ex. le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III en opposition au Sacch. ellipsoïdens I). D'après les points de vue que nous venons d'exposer, et qu'on trouvera plus développés dans le texte danois, nous pouvons diviser nos six espèces en deux groupes, et nous apprenons que les espèces qui ont les températures maxima les plus hautes pour le bourgeonnement et la fermentation, les ont aussi pour la formation des voiles,

---

En examinant la levûre de dépôt provenant des cultures faites dans les flacons et décrites plus haut, j'ai observé que, dans la plupart des cas, elle avait l'aspect pâteux ordinaire des masses de levûre, mais que, dans d'autres cas, elle formait au fond du flacon une couche membraneuse froncée. Tel était le cas pour le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III. Chez le premier, elle etait cependant pâteuse à la plupart des températures et, en général, ne devenait membraneuse qu'au-dessous de 7 ° C.; chez le second, il se développait de la levûre de dépôt pâteuse dans les cultures faites aux températures comprises entre

35 et 22 ^{0} C., après quoi elle commençait à devenir membraneuse et froncée et, entre 14 et 1 ^{0} C., cette forme était très marquée.[1])

La levûre de dépôt membraneuse, chez les deux formes de fermentation haute précitées, se composait principalement de colonies fortement développées ressemblant à du mycelium, et présentait par suite au microscope une image bien différente de celle de la semence. En prolongeant les cultures un temps suffisant, j'ai constaté que les cellules de levûre de dépôt des espèces différaient dans plusieurs cas de celles de la semence, et qu'il était aussi possible, par cette voie, d'obtenir des caractères morphologiques et physiologiques. En faisant des essais de cultures sur un substratum solide à de hautes températures, j'ai eu l'occasion de faire des observations analogues. Ces études nous ont ainsi fourni une nouvelle preuve de l'influence qu'exercent les températures. La même espèce, sous une influence extérieure variable, peut se comporter d'une manière toute différente et présenter un tout autre cachet; mais, réciproquement, on trouve aussi que l'influence dont il s'agit a des limites et que nos six espèces réagissent d'une manière différente, preuve qui il y a des facteurs internes, inhérents aux cellules, qui exercent leur action.

Un des résultats pratiques de mes études sur les levûres alcooliques consiste en ceci, qu'elles ont conduit au développement d'une méthode pour les analyses de la levûre des brasseries. C'est en grande partie sous l'influence de la pratique elle-même que mes travaux ont été entrepris. Lorsque, il y a environ dix ans, je commençai à travailler pour les grandes brasseries de Carlsberg et fus, en particulier, chargé d'analyser la levûre et d'en suivre le développement pendant la fermentation, je sentais souvent combien se réduisait à peu de chose ce qu'on pouvait faire dans ce domaine. L'analyse, telle qu'elle était alors possible, se bornait à rechercher si la levûre renfermait ou non des bactéries et des moisissures. Je remarquai bien assez vite que, dans la masse même de la levûre et dans ces cellules de Saccharomyces en apparence identiques, devaient se cacher de grands et importants secrets, et que c'était justement là qu'il fallait porter l'attaque, mais la littérature existante ne donnait aucun éclaircissement à ce sujet. Mon travail n'aboutissant à aucun résultat et l'exploitation de la brasserie me posant tous les jours des questions à résoudre, je ne tardai pas à voir que je devais ou me frayer une nouvelle voie ou me retirer. Je résolus donc d'essayer dans la

[1]) La note p. 187 du texte danois explique comment l'aspect de la levûre de dépôt, du moins dans certains cas, dèpend du mode de culture auquel l'espèce de levûre avec laquelle on opère est soumise. On peut par là obtenir une levûre pâteuse, membraneuse et caséeuse. La clarté et la couleur du liquide fermenté sont en connexion étroite avec ces variations dans la levûre.

mesure de mes forces. Bien que je n'aie pas trouvé dans la littérature ce que j'y cherchais, il va cependant sans dire qu'elle ne m'a pas été inutile, et sans les importants travaux de MM. Pasteur et Reest, en particulier, je n'aurais guère été en état de résoudre le problème.

Comme point de départ de mes recherches, je pris une masse de levûre basse qui, d'après les données existantes, devait se composer d'une seule espèce, le Sacch, cerevisiæ, et être regardée comme pure et exempte de tout mélange étranger. Je partis de l'hypothèse que ces cellules en apparence identiques pouvaient peut-être appartenir à plusieurs espèces, et que, le cas échéant, je pourrais bien aussi découvrir entre elles des caractères distinctifs. Pour éclaircir ces questions, j'exécutai d'abord une nombreuse série de cultures, chacune avec l'ensemencement d'une seule cellule d'après les méthodes communiquées dans mon mémoire précédent (p. 92 et suiv.), et, avec ces cultures pures, j'ai ensuite expérimenté de diverses manières.

Le premier point de repère que j'ai découvert a été la marche du développement des ascospores chez les Saccharomyces. Le mémoire de mes aides, MM. Holm et Poulsen [1]), montre que les résultats obtenus, lorsqu'ils sont employés comme il convient dans l'analyse pratique, non seulement la rendent sûre, mais lui donnent en même temps un grand degré de finesse.

De là se sont développées comme d'elles-mémes mes études sur les maladies de la bière provoquées par des ferments alcooliques, ainsi que des méthodes pour un choix systématique de races déterminées dans les cultures pures à l'usage de la grande industrie.

Tous ces travaux, qui, tout en étant rigoureusement scientifiques, ont cependant été executés directement en vue de la pratique, conservent ou perdent leur valeur avec la supposition que les Saccharomyces constituent des espèces, des variétés ou des races, ou, en d'autres termes, que les caractères découverts par moi sont constants. Comme nous avons souvent eu l'occasion de le constater, la définition de l'espèce, telle qu'elle est exposée dans le système de M. Reess, est erronée, et M. Pasteur ne s'est, à cet égard, placé à aucun point de vue déterminé. Une question de cette nature ne pourra naturellement être tout à fait éclaircie que par des expériences méthodiques poursuivies pendant des années aves des cultures absolument pures. Ce sont de pareilles recherches qui, pour la première fois, ont été entreprises par moi.

La question fondamentale que nous venons de soulever n'est pas encore résolue, mais les essais pratiqués jusqu'ici nous ont appris que les Saccharomyces comprennent des formes avec un haut degré de constance, et que tout indique qu'il se trouve dans ce genre des espèces aussi bien caractérisées que chez les champignons supérieurs. Ces ré-

---

[1]) Holm et Poulsen: Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de «levûre sauvage» dans une masse de levûre basse de Saccharomyces cerevisiæ? (Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 4 Liv. 1886, pag. 88).



sultats ont aussi été confirmés par mes études sur les voiles, que j'ai communiquées plus haut. Je me propose, dans un travail ultérieur, de déterminer d'une manière p'us précise que cela n'a eu lieu jusqu'ici le rôle qu'elles doivent jouer dans la méthode analytique.

Après que les races cultivées par moi à l'état de pureté eurent été introduites dans la pratique de la grande industrie tant à l'étranger qu'en Danemark, on a pu, dans des conditions souvent très différentes de cultures, faire des observations importantes quoique sans y apporter tout à fait la même rigueur scientifique qu'au laboratoire. Dans la plupart des cas, les praticiens aussi bien que les thèoriciens ont porté un jugement favorable sur mes innovations, mais les attaques n'ont pas manqué non plus. A la tête de mes adversaires s'est mis M. le professeur Dr. Delbrück, directeur de la station d'essais, à Berlin. S'appuyant en partie sur les doctrines de M. Nägeli, il s'est élevé contre mes essais pour introduire dans l'industrie des cultures pures de certaines races choisies, et a mis en garde contre ma méthode botanique. M. le Dr. Hayduck, chimiste distingué, s'est joint à lui et a soulevé la question si la levûre de bière comme levûre basse comprend ou non différentes races douées de propriétés constantes. D'après la manière de voir encore généralement admise, il désigne toute levûre basse comme une espèce et croit que les différences qu'elle peut présenter sont d'une nature purement passagère sans constance, de sorte qu'elles s'effacent facilement et rapidement dans d'autres conditions de culture, C'est en réalité la même doctrine que, dans ce domaine, on trouve chez les naturalistes les plus renommés, et qui de là s'est propagée dans des écrits et des cours populaires. Dans les derniers temps, elle a reçu une espèce d'appui dans les théories bactériologiques de M. Nägeli. Jusqu'en 1881, entrainé par le courant universel, j'ai aussi partagé cette opinion, comme on peut le voir en plusieurs endroits dans mes mémoires publiés jusqu'alors, et ce n'est qu'après avoir entrepris une grande série d'essais originaux que j'ai vu les choses d'un autre œil. Le résultat auquel je suis arrivé sur ce point peut s'exprimer comme il suit: L'idée qui a été attachée jusqu'ici dans la littérature au nom systématique de Sacch. cerevisiæ (forme de levûre basse) est erronée; car, sous ce nom, sont comprises non pas une, mais plusieurs formes morphologiquement et physiologiquement différentes, auxquelles on pourrait donner des noms spécifiques particuliers avec autant de droit qu'aux espèces de levûres sauvages appelées Sacch. Pastorianus, Sacch. ellipsoïdeus, etc. Ces formes peuvent être distinguées les unes des autres par des caractères déterminés, et elles ont au moins un haut degré de constance.[1])

---

[1]) Dans un mémoire antèrieur, j'ai déjà fait remarquer, relativement à la question dont il s'agit, qu'il ne peut pas encore être question de décider ce que, chez les Saccharomyces, il faut appeler espèce, variété, race ou modification. C'est pourquoi je n'ai pas non plus voulu introduire dans le présent mémoire de nouveaux noms systématiques. Mais pour pouvoir parler de ces objets, il sera difficile d'éviter l'emploi de désignations comme

Tout en continuant jusqu'à plus ample informé à nous servir des anciens noms systématiques, nous devons faire observer que nous n'avons pas le droit d'y attacher les idées qui les accompagnaient jusqu'ici. C'est ce que M. le Dr. Hayduck a fait. Il s'est servi dans ses recherches d'une levûre basse qui, d'après l'ancienne méthode, pouvait être considerée comme formée de Sacch. cerevisiæ à l'état de pureté, et rempli de l'idée qu'il devait n'y trouver qu'une espèce, il l'a traitée comme telle sans chercher, comme moi, à la décomposer en ses éléments éventuels.

Les attaques de mes honorés collègues de Berlin ont eu pour résultat que mes travaux ont, de divers côtés, été soumis à un examen, et elles ont provoqué en faveur de ma cause plusieurs excellents écrits.[1]) Elle a aussi en somme été favorablement jugée dans l'assemblée générale tenue à Berlin en avril 1885. La dispute n'est pas close, mais est entrée provisoirement dans une phase plus tranquille, et l'opinion générale à ce sujet a certainement trouvé son expression dans le court résumé suivant qu'en a donné M. le professeur Dr. Lintner sen., le célèbre auteur zymotechnique bavarois: [2])

Après que plusieurs brasseries ont employé les races de levûres cultivées à l'état de pureté de Carlsberg, et que la station scientifique de Munich a introduit dans les brasseries des races de Munich cultivées à l'état de pureté, les faits observés peuvent se résumer dans les points suivants:

---

espèce ou race; ces mots signifient seulement alors qu'il s'agit d'organismes qui, sous un rapport ou sous un autre, se distinguent les uns des autres par des caractères constants.

[1]) Je n'ai pas jusqu'à présent pris part moi-même à cette dispute; les principaux articles publiés à cette occasion sont dus à MM.:

Delbrück (Wochenschrift für Brauerei. Berlin 1885, p. 126).

Hayduck (Même revue, p. 314).

J. C. Jacobsen (Même revue, p. 126, et Zeitschrift für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 117).

Aubry (Zeitschrift für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 133 et pag. 237).

Bělohoubek (Der Böhmische Bierbrauer. Prague 1885, p. 498).

Alfred Jörgensen (Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Vienne 1885, p. 489 et suiv., p. 609 et suiv. Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. Nüremberg 1885, p. 359, et le numéro du jubilé).

Thausing (Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Vienne 1885, p. 755).

Will (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. Nüremberg 1785, le numéro du jubilé).

Louis Marx (Revue universelle de la brasserie et de la malterie. Paris et Bruxelles 1885, No. 622).

[2]) C. Lintner, Zymotechnische Rückblicke auf das Jahr 1884 (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 399).

1. Par l'infection des levûres dites »sauvages«, une levûre de brasserie d'ailleurs normale peut être mise hors d'état de produire une bière de bon goût et pouvant se conserver.

2. Une pareille infection peut être produite par les levûres sauvages contenues pendant l'été et l'automne dans les poussières de l'air, comme aussi par la drêche ou par d'autres levûres.

3. En employant les méthodes de cultures pures et d'analyse de M. Hansen, on peut d'une pareille masse de levûre infectée retirer une bonne levûre brasserie à l'état de pureté, telle qu'on la désire.

4. La levûre cultivée à l'état de pureté jouit à un haut degré des propriétés qu'avait la levûre primitive avant qu'une telle culture devînt nécessaire, tant en ce qui concerne la degré de l'atténuation que le goût et la conservation de la bière.

5. Il existe différentes races de la levûre basse normale de bière (Sacch. cerevisiæ), chacune avec des propriétés spéciales qui, comme particularités de races, se maintiennent constantes.

Que je voie très bien moi-même ce qui manque encore avant que mon édifice puisse être regardé comme élevé, c'est ce qui ressort des nouvelles recherches que je viens d'exposer. Le compte rendu qui précède servira à éclaircir les idées sur la position de mes travaux, surtout en ce qui concerne les questions fondamentales ci-dessus mentionnées, et à dissiper les malentendus qui se sont produits.

En connexion avec le développement des voiles sont les transformations chimiques qui s'opèrent au-dessous dans la sein du liquide. et qui se manifestent entre autres par une décoloration. La bière produite à la fin de la fermentation principale et brun foncé comme le moût employé dans l'expérience, et on ne découvre pas grande différence dans la couleur. Il en est tout autrement lorsque la bière est restée plus ou moins longtemps en repos, et que la surface en est recouverte d'un voile. Ce changement de couleur peut être très marqué, le liquide originairement brun foncé pouvant même devenir jaune clair. J'ai observé souvent cette décoloration, non seulement chez mes six espèces mentionnées plus haut, mais aussi chez les nombreux Saccharomyces avec lesquels j'ai expérimenté dans le cours des années, et elle se produit aussi, mais peut-être pas chez toutes les espèces, chez les cellules de levûre qui ne peuvent pas développer de spores endogènes.

Dans les essais faits à la température du laboratoire, cette décoloration est surtout très frappante dans les cultures du Sacch. ellipsoïdeus II et du Sacch. Pastorianus III, les deux espèces qui, dans les conditions données, développent régulièrement les voiles les plus forts. De même que la formation des voiles, la décoloration a lieu plus vite à de hautes qu'à de basses températures; c'est ainsi qu'elle était déjà très apparente

au bout de 7 jours dans les cultures décrites plus haut du Sacch. ellipsoïdeus II, aux températures comprises entre 26 et 35 ° C.

Cette décoloration rappelle beaucoup celle que les Saccharomyces peuvent provoquer dans d'autres circonstances, et dont j'ai dit quelques mots dans la note p. 120.[1])

Dans mes recherches sur les voiles, j'ai spécialement observé si leurs cellules développaient ou non des ascospores, et suis arrivé à ce résultat que cela n'a lieu que tout exceptionnellement lorsque le liquide nourricier est du moût de bière; car, bien que, pendant le temps considérable qu'ont pris les essais décrits plus haut, j'aie examiné un très grand nombre de préparations, ce n'est cependant que dans un seul cas que j'ai constaté la présence de quelques cellules avec ces organes de multiplication, et encore n'appartenaient-elles pas au voile, mais à la ceinture de levûre qui s'était étendue sur la paroi du ballon au-dessus de la surface du liquide. Il en était tout autrement des essais mentionnées p. 195 du texte danois, où, au lieu de moût, on employait comme liquide nourricier une décoction d'eau de levûre. De ces observations, on peut certainement tirer la conséquence, que les ascospores ne se produisent pas là où une fermentation de sucre peut avoir lieu, ni en général non plus lorsque le développement du voile est très marqué.

En 1879, M. Schmitz a découvert chez le Sacch. cerevisiæ (levûre de bière) des corps qu'il considère comme des noyaux cellulaires. D'après lui, il y a dans chaque cellule un noyau sphérique qui est logé dans le plasma environ au centre de la cellule. Il a également trouvé ces noyaux chez le Mycoderma vini dans des conditions analogues. En employant la méthode de préparation indiquée par M. Schmitz, j'ai observé des corps analogues chez les Saccharomyces suivants: levûre basse n° 1 de Carlsberg, levûre haute de Burton, Sacch. Pastorianus I et Sacch. Pastorianus II. Seulement j'ai constaté, du moins dans quelques cas, qu'ils n'étaient pas sphériques, comme l'indique M. Schmitz, mais discoïdes; ils n'étaient pas non plus, dans la règle, placés au centre de la cellule, mais tout aussi souvent à l'une de ses extrémités. Ayant eu l'occasion, il y a quelques années, d'aborder cette question avec M. le professeur Schmitz, nous finîmes par conclure, après avoir comparé nos préparations, que mes

---

[1]) J'ai communiqué, p. 193—195 du texte danois, quelques observations sur l'influence que la composition chimique du liquide nourricier a sur le développement des voiles et sur la forme des cellules qui les composent.

corps colorés en bleu étaient les mêmes que ceux qu'il avait découverts, Dans un de ses mémoires, il fait lui-même remarquer que le noyau, chez la même cellule, peut affecter différentes formes dans les différentes phases du développement; dans les jeunes cellules il est souvent sphérique, tandis que dans les cellules âgées, il devient discoïde avec un contour arrondi ou irrégulier. Bien que, dans ce passage, il ne soit pas question de cellules de levûre, je suppose cependant que là se trouve l'explication de la différence entre les observations de M. Schmitz et les miennes. Plus tard j'ai constaté qu'en traitant les cellules de levûre par l'acide osmique, et en les mettant ensuite dans de la glycérine diluée, on obtenait plus facilement des préparations tout aussi bonnes que les précédentes. Pour les recherches de MM. Zalewski et Krasser voir p. 197 du texte danois.

Dans le cours de mes expériences, j'ai également eu plusieurs fois l'occasion d'observer ces noyaux dans les cellules des voiles chez le Sacch. pastorianus I, le Sacch. Pastorianus II et le Sacch, ellipsoïdeus I, sans entreprendre aucune coloration, mais seulement en mettant les cellules en question dans une préparation microscopique ordinaire, dans un peu d'eau ou dans le mélange de glycérine de Hantsche. Je les ai trouvés dans les vieilles cultures mentionnées plus haut des ballons Pasteur faites à la température ordinaire d'un appartement, et de même dans des cultures faites dans des flacons à 14—6 ^{0} C. Si leur apparition dans les voiles est limitée aux conditions et aux espèces indiquées ci-dessus, c'est ce que je ne saurais décider, comme je n'ai pas entrepris de recherches spéciales en vue de cette question.

Dans ce qui précède, les voiles des Saccharomyces ont été étudiés à différents points de vue; il nous reste encore à parler du mucilage qui se développe entre les cellules.

C'est un fait connu de tous les brasseurs que les cellules de levûre, au sein de la bière en fermentation, peuvent, sous certaines conditions encore inconnues, se réunir en amas irréguliers qui avec une facilité relative tombent au fond, de sorte que le liquide qui est au-dessus devient clair. On a prêté une grande attention à ce phénomène, et il est souvent mentionné dans les écrits tant scientifiques que techniques qui traitent de la levûre, mais on n'a pas encore réussi à l'expliquer. En soumettant la levûre de bière ordinaire à un traitement chimique, on a bien obtenu un hydrate de carbone, appartenant aux mucilages végétaux, qui est supposé provenir de la membrane des cellules, mais jusqu'ici il n'a pas été possible de résoudre cette question essentielle. On a également, pendant longtemps, vainement cherché avec le microscope des formations mucilagineuses chez les cellules de levûre. C'est seulement en 1884 que j'ai réussi à en découvrir (Botan. Centralblatt, B. XXI No. 6). J'ai plus tard poursuivi ces recherches, et en communiquerai ici en peu de mots les principaux résultats. Chez les Saccharomyces et des cellules de levûre

de plusieurs espèces qui ne développent pas de spores endogènes. il peut, sous certaines conditions, se produire des formations qui se présentent comme un réseau gélatineux composé de cordes ou de lames. Dans les mailles ou les vides de ce réseau sont logées les cellules. Les granulations qui se trouvent à l'origine entre celles-ci peuvent devenir partie intégrante du réseau, comme aussi lui donner une coloration. De même que le plupart des membranes gélatineuses, ce réseau n'est pas coloré en bleu par l'iode. Un moyen facile de l'obtenir consiste à mettre un amas de levûre épaisse, comme il y en a ordinairement dans les brasseries, dans un bocal qu'on recouvre ensuite et laisse quelque temps en repos. Il apparaît pendant que la levûre est encore suffisamment humide, mais ne se forme pas si le dessèchement est trop rapide. On l'observe généralement dans les cultures d'ascospores sur des blocs de plâtre et sur la gélatine. D'après une communication verbale de M. Alfred Jörgensen, ce réseau s'est aussi fréquemment montré dans les nombreuses préparations de levûre dans du papier à filtrer qui, dans les dernières années, ont de divers côtés été envoyées à son laboratoire.[1]) Ce n'est pas non plus un phénomène rare dans la pratique.

J'ai observé assez souvent cette formation de réseau chez le Sacch. cerevisiæ I, le Sacch. Pastorianus I, le Sacch. Pastorianus II, le Sacch. ellipsoïdeus I et le Sacch. ellipsoïdeus II, tant dans les voiles que surtout dans la ceinture de levûre qui se développe sur les parois des ballons, et aussi bien à de hautes qu'à de basses températures. J'ai lieu de croire qu'en poursuivant cette recherche dans les mêmes circonstances, on la trouvera aussi chez le Sacch. Pastorianus III: je l'ai en tout cas rencontrée plusieurs fois dans mes essais avec la levûre de dépôt de cette espèce.

Dans mes expériences sur la levûre ordinaire de mise en levain provenant des cuves de fermentation, j'ai constaté comme d'habitude qu'un examen microscopique des cellules dans cet état ne pouvait faire découvrir trace du réseau dont il s'agit ni, en général, de formations mucilagineuses. En produisant ensuite des colorations d'après plusieurs des méthodes ordinairement employées en bactériologie, le réseau a apparu très distinctement et sous une très jolie forme. La préparatiou microchimique durcit la masse mucilagineuse, qui prend alors une forme déterminée. Tandis que les cellules mêmes se colorent fortement, le réseau ne reçoit aucune coloration ou seulement une faible teinte. En procédant à un grand lavage, on peut obtenir une masse de levûre qui, traitée par les méthodes de coloration ci-dessus mentionnées, ne montre plus de réseau. Mais débarrasse-t-on les cellules de leur eau et les laisse-t-on reposer quelque temps, la masse mucilagineuse peut se reproduire et le réseau reparaître si la préparation est convenablement faite. Cela s'applique aussi aux nouvelles générations qu'on obtient en semant dans du moût les vieilles cellules lavées.

---

[1]) Sur cette manière commode de préparer de la levûre qui doit être envoyée au dehors et conservée pendant longtemps, on trouvera des renseignements dans mon mémoire cité plus haut sur la formation des ascospores, chapitre des méthodes, p. 29.

Comme on devait s'y attendre, cette formation mucilagineuse dépend de l'alimentation des cellules, en ce sens qu'en variant celle-ci on peut l'activer ou l'arrêter et exercer une action sur sa composition chimique.

Les questions dont il s'agit seront traitées avec détail dans un mémoire spécial accompagné des figures nécessaires, et qui donnera aussi des renseignements sur les rapports existant entre cette formation mucilagineuse et ce qu'on appelle Zooglœes chez les bactéries.

CONTRIBUTIONS DE MES PRÉDÉCESSEURS À LA CONNAISSANCE DE LA FORMATION DES VOILES CHEZ LES SACCHAROMYCES.

Les premières indications sur cette espèce de végétations se trouvent dans l'ouvrage remarquable pour l'époque de M. Reess, «Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze», 1870. Tandis que chez lui la description morphologique est la chose principale, l'expérimentation, chez M. Pasteur, occupe toujours le premier rang; c'est en somme, comme on sait, de ce éminent savant que date l'étude expérimentale moderne des microorganismes. Il a également donné des contributions à la principale question qui est traitée dans le présent mémoire.

Dans l'ouvrage souvent cité par moi, «Études sur la bière» 1876, se trouve, p. 201, une communication sur «un nouveau genre de levûres alcooliques, les levûres aérobies ou levûres-moisissures». M. Pasteur a remarqué qu'à la surface du liquide qui avait été le siège d'une fermentation alcoolique et abandonné ensuite longtemps à lui-même, il se formait un voile mycodermique ou, tout autour du bord de cette surface, une ceinture de levûre. C'est cette végétation de lévûre, observée par lui surtout dans la bière et des liquides nourriciers analogues, qu'il désigne sous les noms ci-dessus. Le développement le plus marqué et le plus rapide se produisait là où l'air avait le plus libre accès. De ces levûres aérobies, il est dit, p. 205, que, bien quelles ressemblent aux formes de la levûre d'origine, du moins en apparence, elles ne leur sont cependant pas identiques. «Dans la plupart de mes expériences», ajoute M. Pasteur, «j'ai vu la nouvelle levûre aérobie se comporter comme une levûre haute, montant à la surface, et donnant une bière qui a quelque chose de plus parfumé que la bière de la levûre basse dont elle émane. Enfin les propriétés d'une levûre aérobie ne sont pas propres à une première culture, elles sont héréditaires.» A la page 213, M. Pasteur soulève la question si la levûre haute employée dans l'industrie n'est pas la forme de levûre aérobie de la levûre basse, et ajoute: Je serais disposé à croire que la levûre que j'ai appelée nouvelle levûre haute pourrait bien être la levûre aérobie de la levûre basse des brasseries alsaciennes ou allemandes.» Mais plus en arrière dans son livre, p. 189, il est par la voie expérimentale arrivé à un autre résultat, à

savoir que la levûre haute et la levûre basse sont deux espèces différentes qui ne passent pas de l'une à l'autre; cependant l'idée que le contraire pourrait quand même être le cas l'a évidemment dominé de plus en plus pendant la rédaction de l'ouvrage. C'est ainsi que, à propos de la mise en levain (p. 333, note), il y revient encore. Il y donne en effet aux brasseurs une recette quant à la manière dont ils doivent traiter leur levûre basse, s'ils veulent empêcher qu'elle ne soit transformée en levûre haute par le développement de la levûre aérobie.

De ce qui précède, nous devons conclure que c'est l'opinion de M. Pasteur que «le nouveau genre de levûre» est une forme de développement de la levûre de dépôt ordinaire. Mais, dans la note p. 205, il exprime quelques doutes à cet égard et admet la possibilité que les formes de la levûre aérobie se soient trouvées à l'état de mélanges cachés dans masses de levûre avec lesquelles les expériences ont été faites. Il donne des raisons pour et contre cette manière de voir, sans pourtant arriver à résoudre ce point si important.

D'après M. Pasteur, les cellules de la levûre aérobie ont essentiellement la même forme que les cellules qui ont servi à l'ensemencement et que celles de la levûre de dépôt correspondante; la levûre aérobie de la levûre haute doit par conséquent, dans tous les cas, avoir des cellules rondes, etc. Par contre, il indique que les formations de voiles chez les diverses espèces, ont un aspect différent. Chez le Sacch. Pastorianus, la levûre aérobie forme à la surface du liquide, dans le voisinage de la paroi du ballon, un anneau qui se défait à la moindre secousse. La levûre aérobie de la levûre haute se montre sous forme de petits mamelons isolés à la surface du liquide fermenté. La levûre aérobie de la levûre basse forme une couche non cohérente qui, à la moindre secousse, tombe au fond comme une pluie de petites parcelles irrégulières, sans cependant troubler le liquide. Quant à la levûre aérobie de la levûre caséeuse, elle doit être caractérisée par la formation d'un voile épais, onctueux et continu, mais qui, de même que le précédent, se sépare en fragments lorsqu'on secoue le ballon.

Voilà, dans tous les points essentiels, ce que M. Pasteur a communiqué sur la levûre aérobie. En comparant avec ces résultats mes études précédentes sur les voiles des Saccharomyces, on a tout d'abord l'impression que ce sont probablement les mêmes phénomènes dont il est question; mais un examen plus attentif fait apercevoir de grands désaccords et naître des doutes à cet égard.

Le premier point que nous examinerons est l'assertion émise par M. Pasteur, que la levûre basse est aussitôt transformée en levûre haute par le développement de la levûre aérobie, et que les nouvelles propriétés ainsi acquises ne sont pas temporaires mais héréditaires. Pour résoudre cette question, j'ai entrepris un grand nombre d'expériences tant avec mes six espèces nommées plus haut qu'avec une race de levûre basse retirée d'une bière attaquée du trouble de la levûre[1]), la levûre basse n° 1

[1]) Emil Chr. Hansen. Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques (Résumé du compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2 Liv., 1883, p. 52 et suiv.).

de Carlsberg et enfin une espèce de levûre que j'appellerai dès à présent Sacch. exiguus, et sur laquelle je donnerai des renseignements plus détaillés dans un mémoire spécial. J'ai expérimenté aussi bien sur des voiles de formation récente que plus âgés, tous développés dans des cultures de moût à la température du laboratoire, par conséquent dans des conditions qui, autant que j'en puis juger, étaient les mêmes que celles dans lesquelles M. Pasteur opérait. Les ballons employés étaient en partie du modèle Pasteur, en partie du modèle Chamberland. Le voile formé par chacune des espèces ci-dessus mentionnées a servi à infecter un nouveau moût stérilisé, et j'ai ainsi comme auparavant toujours travaillé avec des cultures pures. Mes expériences peuvent se diviser en deux groupes. Dans l'un, les cellules semées non seulement dans les premiers ballons, mais aussi dans tous les suivants, provenaient toutes de végétations de voiles. En d'autres termes, un ballon *a* infecté avec une de ces végétations mycodermiques était abandonné à lui-même jusqu'à ce qu'il s'y fût développé un voile; avec ce voile on infectait le ballon *b*, dont le voile une fois formé servait à infecter la ballon *c*, etc. L'infection était donc constamment due aux voiles de formation nouvelle qui étaient transportés d'un ballon dans un autre jusqu'au dernier d'une longue série. Dans le deuxième groupe, au contraire, l'infection ne provenait d'un voile que dans le premier ballon de chaque espèce. Avec la levûre de dépôt qui s'y formait et avant que le voile s'y fût développé, on infectait le second ballon, et avec la levûre de dépôt de ce dernier, le troisième ballon, etc. L'infection, dans tous les ballons de chaque série de ce groupe, à l'exception du premier, était donc due à une levûre de dépôt. Les deux groupes d'expériences ont été exécutés à la température du laboratoire et à 26° C., en un mot dans des conditions qui, autant que nous sachions, doivent être regardées comme favorables pour provoquer des phénomènes de fermentation haute. Mais ils ne se sont cependant manifestés que dans les cas où les cellules semées à l'origine appartenaient à une forme de levûre haute. Les voiles de toutes les six espèces de levûres basses n'ont toujours développé que de la levûre basse.

Au cas que la levûre aérobie de M. Pasteur soit identique avec ma formation de voile, et qu'il ne se cache pas là-dessous quelque phénomène à moi inconnu, je dois supposer que la levûre basse dont il s'est servi pour ses expériences était mélangée de levûre haute. Comme il relève expressément que les transformations observées n'étaient pas d'une nature passagère, on ne saurait admettre qu'il se soit laissé tromper par cette particularité des Saccharomyces, qu'ils peuvent, après un certain traitement, produire pendant quelques fermentations des phénomènes de fermentation haute, après quoi ils reviennent à l'état normal. Ce n'est pas seulement au laboratoire, mais aussi dans les brasseries qu'on peut observer de pareils phénomènes (voir le texte danois, p. 203). Réciproquement, on peut exercer sur des formes types de levûre haute une action telle, que, pendant plusieurs générations, elles se comportent comme de la levûre basse; mais, dans ces cas aussi, cette transformation n'est que passagère.

Suivant M. Pasteur, les cellules de la levûre aérobie ne sont guère sujettes à variation, et sont, quant à la forme, semblables aux cellules

de la semence et à la levûre de dépôt qui en résulte. Que cette règle, en ce qui concerne mes voiles, n'ait qu'une valeur très conditionnelle, on le voit en jetant seulement un coup d'œil sur les planches qui accompagnent mon mémoire. Le désaccord qui se manifeste sur ce point entre les résultats de M. Pasteur et les miens, s'explique peut-être en partie par la circonstance que les expériences de M. Pasteur ont été faites à la température ordinaire d'un appartement, et qu'il a peut-être limité ses recherches microscopiques au premières phases du développement.

Selon M. Pasteur, les levûres aérobies des diverses espèces de levûres ont un aspect différent, d'après lequel on peut les distinguer l'une de l'autre. Comme il a été dit plus haut, tel n'était pas le cas pour les voiles que j'ai examinés. Même en n'opérant, comme M. Pasteur, qu'à la temperature ordinaire d'un appartement, la seule différence que j'ai observée sous ce rapport entre les six espèces se borne à ceci que, chez quelques-unes, le développement est plus marqué et plus raqide que chez les autres.

Si M. Pasteur, dans sa levûre aérobie, s'est trouvé en face du même phénomène que moi dans mes productions de voiles, il y a donc de grandes différences dans nos résultats. Nous nous plaçons en général à des points de vue différents dans nos études sur les ferments alcooliques; la raison en est en partie que M. Pasteur a surtout traité la question comme chimiste, moi, au contraire, comme botaniste.

En supposant que la levûre aérobie de M. Pasteur soit la même chose que mes voiles, le nom de levûre aérobie n'est pas bien choisi. Il en donne en effet lui-même, p. 115 de son ouvrage, cette définition qu'il doit désigner des organismes qui ne peuvent vivre sans air; mais nous savons que les cellules de mes voiles, lorsqu'elles sont submergées dans des liquides fermentescibles, peuvent les faire entrer en fermentation en dehors de l'influence de l'oxygène libre. Il est bien vrai qu'un abondant afflux d'air favorise le développement des voiles, mais on peut en dire autant du bourgeonnement et de la formation des ascospores (voir le texte danois, p. 204—205). Le plus essentiel d'ailleurs pour la formation des voiles est une surface libre et tranquille et non l'afflux de l'air. Si, par ex., on fait continuellement passer de l'air avec une force suffisante à travers des liquides nourriciers infectés de levûre, il ne se formera pas de voile, et on arrivera au même résultat en secouant de temps en temps le liquide.

L'autre nom de levûre-moisissure n'est également guère bien choisi. D'abord il est toujours fort douteux que les Saccharomyces, dont, pour ce qui me concerne, il est constamment question, soient des formes de développement de moisissures. Il en est en effet des recherches sur ce point comme de celles sur la génération spontanée, que tous les arguments produits jusqu'ici à l'appui de cette interprétation n'ont pu soutenir une épreuve exacte. Ensuite c'est une question encore ouverte, si les cellules de levûre, lorsqu'elles vivent dans des végétations de voiles à la surface du liquide, opèrent les mêmes transformations chimiques que les véritables végétations de moisissures; les recherches que j'ai commencées à ce sujet ne sont pas encore assez avancées pour que je puisse, en ce moment, me prononcer là dessus. Entre autres motifs qui s'opposent à l'introduction de nouveaux noms pour notre phénomène, on

peut aussi relever celui-ci, qui a déjà été mis en avant dans l'introduction au présent mémoire, à savoir que la formation des voiles chez les Saccharomyces n'est pas une forme de développement qui leur soit propre, mais au contraire un phénomène général dans la monde des microorganismes.

Mais si la levûre aérobie de M. Pasteur est un tout autre phénomène que celui qui est traité dans le présent mémoire, et si ce nom désigne des espèces particulières de levûres, comme un des disciples du maître l'a du moins compris, l'examen qui précède de la valeur des noms est naturellement superflu.

La raison pour laquelle nous ne pouvons pas décider avec certitude par l'ouvrage de M. Pasteur de quoi il est au fond question, c'est surtout, comme il le dit lui-même clairement dans la note citée, p. 205, qu'il n'était pas possible de déterminer s'il y avait dans chaque ballon une ou plusieurs espèces. Un autre motif d'incertitude est que, ni dans le chapitre de la levûre aérobie, ni en somme ailleurs, on ne voit s'il est question de Saccharomyces ou seulement de cellules ressemblant à des Saccharomyces. Les mots Saccharomyces et levûres désignent en effet, chez M. Pasteur, des ferments alcooliques en général, avec une faculté fermentative bien prononcée et des cellules de levûres bourgeonnantes, par conséquent des organismes qui peuvent appartenir à des divisions très différentes dans notre système actuel. D'après sa manière de voir (p. 164, 165, 177), ce sont des formes de développement de certaines moisissures encore peu connues ressemblant à des Dematium. Sur la question de l'espèce, qui est en étroite connexion avec ce qui précède, M. Pasteur n'a émis aucune opinion arrêtée. Dans quelques endroits, par ex. p. 147, il semble croire que les organismes dont il s'agit ont des caractères spécifiques constants; dans d'autres, par ex. p. 193, le lecteur attentif reçoit l'impression qu'ils ont une faculté illimitée de variation et qu'il n'y a pas d'espèces parmi eux. Ces deux opinions contraires sont exprimées dans le chapitre sur la levûre aérobie, que nous avons surtout examiné.

Mais pour comprendre ce célèbre ouvrage comme il doit l'être, nous devons toujours retenir que son but, dans ce domaine, était seulement de donner une série de recherches provisoires. Exécuter jusqu'au bout ces recherches n'était guère possible au point où se trouvait alors la sciencc, et depuis lors, chacun le sait, l'illustre savant a consacré ses forces à de tout autres problèmes, des problèmes dont la solution a ouvert un monde nouveau à la médecine et à la biologie.

RÉCAPITULATION.

Dans la première partie de ce mémoire, j'ai fait voir que la formation des voiles est un phénomène très commun dans le monde des microorganismes, et qu'elle a lieu aussi bien chez les bactéries que chez les champignons proprement dits et chez des formes appartenant aux différentes divisions dans le système (p. 106—109).

Nous avons aussi observé cette formation chez les Saccharomyces. et en particulier appris que les végétations, dans les voiles des vieilles cultures, développent. dans les conditions indiquées, des cellules plus allongées et, en général, des colonies plus complexes que les végétations de la semence correspondante; le Sacch. cerevisiæ et le Sacch. ellipsoïdeus du système étaient par là transformés en Sacch. Pastorianus; il s'est produit aussi un développement de cellules filiformes et ressemblant à des bactéries (p. 109—112 et Fig. 3, Pl. III—VIII), Ces observations ont servi de point de départ à des expériences méthodiques avec les six espèces mentionnées dans mes mémoires antérieurs,

Nous avons trouvé qu'une des conditions pour qu'il se produise sous ce rapport un développement bien marqué, c'est que la levûre sur laquelle on opère ait largement accès à l'air atmosphérique. Les expériences ont en conséquence été faites dans des flacons à demi remplis, coiffés de papier à filtrer stérilisé, et on a en outre employé un liquide nourricier favorable, à savoir du moût de bière (p. 112).

En examinant au microscope les cellules de l'ensemencement de cultures pures homogènes, nous avons trouvé qu'elles pouvaient étre rapportées à trois divisions, dont l'une comprend le Sacch. cerevisiæ I, la deuxième, les trois espèces du groupe Sacch, Pastorianus, et la troisième, les deux espèces du groupe Sacch. ellipsoïdeus (p. 112—113 et Pl. I—II).

Les tableaux, p. 114—115, nous donnent un aperçu du développement des voiles á différentes températures. Nous avons surtout appris par là que les premières phases de ce développement, à 13—15 ° C., représentées Fig. 2, Pl. IV—VIII et Fig. 1, Pl. III, présentent des différences bien marquées entre plusieurs de nos six espèces. Il est particulièrement important pour nous que le Sacch. Pastorianus II et le Sacch, Pastorianus III, les deux espèces qui sont des levûres hautes, et dont les cellules de l'ensemencement ne peuvent avec certitude être distinguées les unes des autres, apparaissent ici avec des végétations complètement différentes; il en est de même du Sacch. ellipsoïdeus I et du Sacch. ellipsoïdeus II, deux espèces dont les semences sont similaires, Il est en outre intéressant de voir comment le Sacch. ellipsoïdeus I si caractérisé dans la semence par ses cellules ovales, a formé ici des colonies ressemblant à du mycelium, et est devenu un des Sacch. Pastorianus du système, tandis que le Sacch. Pastorianus II s'est comporté d'une manière inverse. Nous avons vu également que le développement est plus ou moins rapide et marqué chez les différentes espèces, et que leurs températures limites sous ce rapport sont aussi différentes (p. 114—119).

Nous avons constaté que le bourgeonnement et la fermentation ont lieu au-dessus d'une température à laquelle, dans les mêmes circonstances, aucun voile ne peut se développer, et que les espèces qui ont les températures maxima les plus élevées pour le bourgeonnement et la fermentation, les ont aussi pour la formation des voiles (p. 119).

En examinant la levûre de dépôt de nos cultures, nous avons vu que, dans quelques cas, elle était pâteuse, dans d'autres au contraire, membraneuse et plissée ou caséeuse, et que la même espèce, par un certain traitement, peut être amenée à produire chacune de ces levûres de dépôt, Ces cellules ont aussi présenté des différences de forme non sans valeur au point de vue systématique, et nous avons de nouveau appris que la même espèce, sous diverses influences extérieures, peut se comporter tout différemment et avoir un cachet tout différent; mais nous avons en même temps reconnu qu'il y a des limites à cette influence, et que nos six espèces réagissent d'une manière différente (p. 119).

Un des résultats pratiques de mes recherches est en particulier celuici, qu'elles m'ont conduit à une méthode pour l'analyse de la levûre des brasseries. Celles plus récentes qui sont exposées plus haut y ont aussi contribué. Ces travaux, comme tous ceux que j'ai éxecutés pour l'industrie, demeurent ou tombent avec la supposition que les Saccharomyces se comportent comme des espèces, des variétés ou des races, ou, en d'autres termes, que les caractères établis par moi sont constants. C'est aussi contre ce point que mes honorés adversaires, à Berlin, ont dirigé leur principale attaque (p. 120).

Tandis que la première partie du second chapitre traite surtout de la question principale qui domine toutes mes études sur les microorganismes, à savoir celle des espèces et de leur délimitation, la fin, au contraire, contient une série de renseignements divers sur d'autres points: sur la décoloration que les voiles déterminent dans le moût de bière (p. 124), sur l'influence que la composition chimique du liquide nourricier exerce sur le développement des voiles et la forme de leurs cellules (p. 125), sur la formation des spores endogènes (p. 125) et des noyaux dans les cellules des voiles (p. 125) et sur les formations mucilagineuses découvertes par moi, il y a deux ans, chez les cellules de levûre (p. 126).

Les contributions de mes prédécesseurs à la connaissance des voiles chez les Saccharomyces sont exposées p. 128—132. Nous avons trouvé chez M. Reess les premières indications de végétations de ce genre. M. Pasteur nous fournit des contributions plus étendues dans son célèbre ouvrage »Études sur la bière«. Au premier coup d'œil, il semble en effet que la levûre aérobie ou la levûre moisissure de M. Pasteur doive être la même chose que mes voiles; mais une étude plus approfondie nous montre un grand désaccord, et la question devient douteuse. Tandis que M. Pasteur, dans quelques endroits, semble croire que sa nouvelle levûre est une forme de développement de la levûre ordinaire de dépôt, il admet ailleurs la possibilité que les formes de la levûre aérobie se soient trouvées à l'état de mélanges cachés dans la levûre dont il s'est servi pour ses expériences; dans ce cas, ce sont donc des espèces particulières de levûres, et M. Pasteur s'est alors trouvé en face d'un autre

en tant toutefois qu'elles se développaient avec la même énergie. A la chaleur ordinaire d'un appartement avec la température variable des différentes heures du jour, cette espèce se distinguait également par le développement rapide et vigoureux de son voile. Cependant. aux basses températures dont il s'agit, surtout pendant la nuit, le développement était plus lent qu'à la température ci-dessus mentionnée, et le Sacch. Pastorianus III pouvait rivaliser avec elle. Dans les recherches qui précèdent, nous ne nous sommes occupé que des formations de voiles à la surface même du liquide, et avons laissé de côté les végétations qui se développent au-dessus de ce dernier sur les parois mêmes du verre. Pour plus de détails, voir le texte danois, p. 185.

On voit par les tableaux p. 114—115 que la formation des voiles chez le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. ellipsoïdeus I s'arrête dans le voisinage de 38 et, chez le Sacch. ellipsoïdeus II, aux environs de 40 ^{0} C., tandis que, chez les trois espèces du groupe Pastorianus, cet arrêt a lieu déjà au-dessous de 34 ^{0} C. Ce fait est en connexion avec ce que j'ai indiqué dans un mémoire antérieur, à savoir que les températures maxima pour le bourgeonnement ne sont pas les mêmes pour les differentes espèces. Mais le bourgeonnement et la fermentation ont lieu au-dessus de la température à laquelle aucun voile ne peut se développer. Il résulte du texte danois (p. 186) qu'on s'est trompé en croyant pouvoir établir la règle que les levûres de fermentation haute peuvent se développer à des températures plus élevées que les levûres de fermentation basse. Inversement, il y a des levûres de fermentation haute qui, à de basses températures, se développent avec plus d'énergie que certaines levûres de fermentation basse (par ex. le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III en opposition au Sacch. ellipsoïdens I). D'après les points de vue que nous venons d'exposer, et qu'on trouvera plus développés dans le texte danois, nous pouvons diviser nos six espèces en deux groupes, et nous apprenons que les espèces qui ont les températures maxima les plus hautes pour le bourgeonnement et la fermentation, les ont aussi pour la formation des voiles,

---

En examinant la levûre de dépôt provenant des cultures faites dans les flacons et décrites plus haut, j'ai observé que, dans la plupart des cas, elle avait l'aspect pâteux ordinaire des masses de levûre, mais que, dans d'autres cas, elle formait au fond du flacon une couche membraneuse froncée. Tel était le cas pour le Sacch. Pastorianus II et le Sacch. Pastorianus III. Chez le premier, elle etait cependant pâteuse à la plupart des températures et, en général, ne devenait membraneuse qu'au-dessous de 7 ^{0} C.; chez le second, il se développait de la levûre de dépôt pâteuse dans les cultures faites aux températures comprises entre

35 et 22 ^{0} C., après quoi elle commençait à devenir membraneuse et froncée et, entre 14 et 1 ^{0} C., cette forme était très marquée.[1])

La levûre de dépôt membraneuse, chez les deux formes de fermentation haute précitées, se composait principalement de colonies fortement développées ressemblant à du mycelium, et présentait par suite au microscope une image bien différente de celle de la semence. En prolongeant les cultures un temps suffisant, j'ai constaté que les cellules de levûre de dépôt des espèces différaient dans plusieurs cas de celles de la semence, et qu'il était aussi possible, par cette voie, d'obtenir des caractères morphologiques et physiologiques. En faisant des essais de cultures sur un substratum solide à de hautes températures, j'ai eu l'occasion de faire des observations analogues. Ces études nous ont ainsi fourni une nouvelle preuve de l'influence qu'exercent les températures. La même espèce, sous une influence extérieure variable, peut se comporter d'une manière toute différente et présenter un tout autre cachet; mais, réciproquement, on trouve aussi que l'influence dont il s'agit a des limites et que nos six espèces réagissent d'une manière différente, preuve qui il y a des facteurs internes, inhérents aux cellules, qui exercent leur action.

Un des résultats pratiques de mes études sur les levûres alcooliques consiste en ceci, qu'elles ont conduit au développement d'une méthode pour les analyses de la levûre des brasseries. C'est en grande partie sous l'influence de la pratique elle-même que mes travaux ont été entrepris. Lorsque, il y a environ dix ans, je commençai à travailler pour les grandes brasseries de Carlsberg et fus, en particulier, chargé d'analyser la levûre et d'en suivre le développement pendant la fermentation, je sentais souvent combien se réduisait à peu de chose ce qu'on pouvait faire dans ce domaine. L'analyse, telle qu'elle était alors possible, se bornait à rechercher si la levûre renfermait ou non des bactéries et des moisissures. Je remarquai bien assez vite que, dans la masse même de la levûre et dans ces cellules de Saccharomyces en apparence identiques, devaient se cacher de grands et importants secrets, et que c'était juste ment là qu'il fallait porter l'attaque, mais la littérature existante ne donnait aucun éclaircissement à ce sujet. Mon travail n'aboutissant à aucun résultat et l'exploitation de la brasserie me posant tous les jours des questions à résoudre, je ne tardai pas à voir que je devais ou me frayer une nouvelle voie ou me retirer. Je résolus donc d'essayer dans la

---

[1]) La note p. 187 du texte danois explique comment l'aspect de la levûre de dépôt, du moins dans certains cas, dépend du mode de culture auquel l'espèce de levûre avec laquelle on opère est soumise. On peut par là obtenir une levûre pâteuse, membraneuse et caséeuse. La clarté et la couleur du liquide fermenté sont en connexion étroite avec ces variations dans la levûre.

mesure de mes forces. Bien que je n'aie pas trouvé dans la littérature ce que j'y cherchais, il va cependant sans dire qu'elle ne m'a pas été inutile, et sans les importants travaux de MM. Pasteur et Reest, en particulier, je n'aurais guère été en état de résoudre le problème.

Comme point de départ de mes recherches, je pris une masse de levûre basse qui, d'après les données existantes, devait se composer d'une seule espèce, le Sacch, cerevisiæ, et être regardée comme pure et exempte de tout mélange étranger. Je partis de l'hypothèse que ces cellules en apparence identiques pouvaient peut-être appartenir à plusieurs espèces, et que, le cas échéant, je pourrais bien aussi découvrir entre elles des caractères distinctifs. Pour éclaircir ces questions, j'exécutai d'abord une nombreuse série de cultures, chacune avec l'ensemencement d'une seule cellule d'après les méthodes communiquées dans mon mémoire précédent (p. 92 et suiv.), et, avec ces cultures pures, j'ai ensuite expérimenté de diverses manières.

Le premier point de repère que j'ai découvert a été la marche du développement des ascospores chez les Saccharomyces. Le mémoire de mes aides, MM. Holm et Poulsen [1]), montre que les résultats obtenus, lorsqu'ils sont employés comme il convient dans l'analyse pratique, non seulement la rendent sûre, mais lui donnent en même temps un grand degré de finesse.

De là se sont développées comme d'elles-mémes mes études sur les maladies de la bière provoquées par des ferments alcooliques, ainsi que des méthodes pour un choix systématique de races déterminées dans les cultures pures à l'usage de la grande industrie.

Tous ces travaux, qui, tout en étant rigoureusement scientifiques, ont cependant été executés directement en vue de la pratique, conservent ou perdent leur valeur avec la supposition que les Saccharomyces constituent des espèces, des variétés ou des races, ou, en d'autres termes, que les caractères découverts par moi sont constants. Comme nous avons souvent eu l'occasion de le constater, la définition de l'espèce, telle qu'elle est exposée dans le système de M. Reess, est erronée, et M. Pasteur ne s'est, à cet égard, placé à aucun point de vue déterminé. Une question de cette nature ne pourra naturellement être tout à fait éclaircie que par des expériences méthodiques poursuivies pendant des années aves des cultures absolument pures. Ce sont de pareilles recherches qui, pour la première fois, ont été entreprises par moi.

La question fondamentale que nous venons de soulever n'est pas encore résolue, mais les essais pratiqués jusqu'ici nous ont appris que les Saccharomyces comprennent des formes avec un haut degré de constance, et que tout indique qu'il se trouve dans ce genre des espèces aussi bien caractérisées que chez les champignons supérieurs. Ces ré-

---

[1]) Holm et Poulsen: Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de »levûre sauvage« dans une masse de levûre basse de Saccharomyces cerevisiæ? (Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 4 Liv. 1886, pag. 88).



sultats ont aussi été confirmés par mes études sur les voiles, que j'ai communiquées plus haut. Je me propose, dans un travail ultérieur, de déterminer d'une manière p'us précise que cela n'a eu lieu jusqu'ici le rôle qu'elles doivent jouer dans la méthode analytique.

Après que les races cultivées par moi à l'état de pureté eurent été introduites dans la pratique de la grande industrie tant à l'étranger qu'en Danemark, on a pu, dans des conditions souvent très différentes de cultures, faire des observations importantes quoique sans y apporter tout à fait la même rigueur scientifique qu'au laboratoire. Dans la plupart des cas, les praticiens aussi bien que les thèoriciens ont porté un jugement favorable sur mes innovations, mais les attaques n'ont pas manqué non plus. A la tête de mes adversaires s'est mis M. le professeur Dr. Delbrück, directeur de la station d'essais, à Berlin. S'appuyant en partie sur les doctrines de M. Nägeli, il s'est élevé contre mes essais pour introduire dans l'industrie des cultures pures de certaines races choisies, et a mis en garde contre ma méthode botanique. M. le Dr. Hayduck, chimiste distingué, s'est joint à lui et a soulevé la question si la levûre de bière comme levûre basse comprend ou non différentes races douées de propriétés constantes. D'après la manière de voir encore généralement admise, il désigne toute levûre basse comme une espèce et croit que les différences qu'elle peut présenter sont d'une nature purement passagère sans constance, de sorte qu'elles s'effacent facilement et rapidement dans d'autres conditions de culture, C'est en réalité la même doctrine que, dans ce domaine, on trouve chez les naturalistes les plus renommés, et qui de là s'est propagée dans des écrits et des cours populaires. Dans les derniers temps, elle a reçu une espèce d'appui dans les théories bactériologiques de M. Nägeli. Jusqu'en 1881, entrainé par le courant universel, j'ai aussi partagé cette opinion, comme on peut le voir en plusieurs endroits dans mes mémoires publiés jusqu'alors, et ce n'est qu'après avoir entrepris une grande série d'essais originaux que j'ai vu les choses d'un autre œil. Le résultat auquel je suis arrivé sur ce point peut s'exprimer comme il suit: L'idée qui a été attachée jusqu'ici dans la littérature au nom systématique de Sacch. cerevisiæ (forme de levûre basse) est erronée; car, sous ce nom, sont comprises non pas une, mais plusieurs formes morphologiquement et physiologiquement différentes, auxquelles on pourrait donner des noms spécifiques particuliers avec autant de droit qu'aux espèces de levûres sauvages appelées Sacch. Pastorianus, Sacch. ellipsoïdeus, etc. Ces formes peuvent être distinguées les unes des autres par des caractères déterminés, et elles ont au moins un haut degré de constance.[1])

---

[1]) Dans un mémoire antèrieur, j'ai déjà fait remarquer, relativement à la question dont il s'agit, qu'il ne peut pas encore être question de décider ce que, chez les Saccharomyces, il faut appeler espèce, variété, race ou modification. C'est pourquoi je n'ai pas non plus voulu introduire dans le présent mémoire de nouveaux noms systématiques. Mais pour pouvoir parler de ces objets, il sera difficile d'éviter l'emploi de désignations comme

Tout en continuant jusqu'à plus ample informé à nous servir des anciens noms systématiques, nous devons faire observer que nous n'avons pas le droit d'y attacher les idées qui les accompagnaient jusqu'ici. C'est ce que M. le Dr. Hayduck a fait. Il s'est servi dans ses recherches d'une levûre basse qui, d'après l'ancienne méthode, pouvait être considerée comme formée de Sacch. cerevisiæ à l'état de pureté, et rempli de l'idée qu'il devait n'y trouver qu'une espèce, il l'a traitée comme telle sans chercher, comme moi, à la décomposer en ses éléments éventuels.

Les attaques de mes honorés collègues de Berlin ont eu pour résultat que mes travaux ont, de divers côtés, été soumis à un examen, et elles ont provoqué en faveur de ma cause plusieurs excellents écrits.[1]) Elle a aussi en somme été favorablement jugée dans l'assemblée générale tenue à Berlin en avril 1885. La dispute n'est pas close, mais est entrée provisoirement dans une phase plus tranquille, et l'opinion générale à ce sujet a certainement trouvé son expression dans le court résumé suivant qu'en a donné M. le professeur Dr. Lintner sen., le célèbre auteur zymotechnique bavarois: [2])

Après que plusieurs brasseries ont employé les races de levûres cultivées à l'état de pureté de Carlsberg, et que la station scientifique de Munich a introduit dans les brasseries des races de Munich cultivées à l'état de pureté, les faits observés peuvent se résumer dans les points suivants:

---

espèce ou race; ces mots signifient seulement alors qu'il s'agit d'organismes qui, sous un rapport ou sous un autre, se distinguent les uns des autres par des caractères constants.

[1]) Je n'ai pas jusqu'à présent pris part moi-même à cette dispute; les principaux articles publiés à cette occasion sont dus à MM.:

Delbrück (Wochenschrift für Brauerei. Berlin 1885, p. 126).

Hayduck (Même revue, p. 314).

J. C. Jacobsen (Même revue, p. 126, et Zeitschrift für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 117).

Aubry (Zeitschrift für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 133 et pag. 237).

Bělohoubek (Der Böhmische Bierbrauer. Prague 1885, p. 498).

Alfred Jörgensen (Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Vienne 1885, p. 489 et suiv., p. 609 et suiv. Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. Nüremberg 1885, p. 359, et le numéro du jubilé).

Thausing (Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabr. Vienne 1885, p. 755).

Will (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung. Nüremberg 1785, le numéro du jubilé).

Louis Marx (Revue universelle de la brasserie et de la malterie. Paris et Bruxelles 1885, No. 622).

[2]) C. Lintner, Zymotechnische Rückblicke auf das Jahr 1884 (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. Munich 1885, p. 399).

1. Par l'infection des levûres dites »sauvages«, une levûre de brasserie d'ailleurs normale peut être mise hors d'état de produire une bière de bon goût et pouvant se conserver.

2. Une pareille infection peut être produite par les levûres sauvages contenues pendant l'été et l'automne dans les poussières de l'air, comme aussi par la drêche ou par d'autres levûres.

3. En employant les méthodes de cultures pures et d'analyse de M. Hansen, on peut d'une pareille masse de levûre infectée retirer une bonne levûre brasserie à l'état de pureté, telle qu'on la désire.

4. La levûre cultivée à l'état de pureté jouit à un haut degré des propriétés qu'avait la levûre primitive avant qu'une telle culture devînt nécessaire, tant en ce qui concerne la degré de l'atténuation que le goût et la conservation de la bière.

5. Il existe différentes races de la levûre basse normale de bière (Sacch. cerevisiæ), chacune avec des propriétés spéciales qui, comme particularités de races, se maintiennent constantes.

Que je voie très bien moi-même ce qui manque encore avant que mon édifice puisse être regardé comme élevé, c'est ce qui ressort des nouvelles recherches que je viens d'exposer. Le compte rendu qui précède servira à éclaircir les idées sur la position de mes travaux, surtout en ce qui concerne les questions fondamentales ci-dessus mentionnées, et à dissiper les malentendus qui se sont produits.

En connexion avec le développement des voiles sont les transformations chimiques qui s'opèrent au-dessous dans la sein du liquide, et qui se manifestent entre autres par une décoloration. La bière produite à la fin de la fermentation principale et brun foncé comme le moût employé dans l'expérience, et on ne découvre pas grande différence dans la couleur. Il en est tout autrement lorsque la bière est restée plus ou moins longtemps en repos, et que la surface en est recouverte d'un voile. Ce changement de couleur peut être très marqué, le liquide originairement brun foncé pouvant même devenir jaune clair. J'ai observé souvent cette décoloration, non seulement chez mes six espèces mentionnées plus haut, mais aussi chez les nombreux Saccharomyces avec lesquels j'ai expérimenté dans le cours des années, et elle se produit aussi, mais peut-être pas chez toutes les espèces, chez les cellules de levûre qui ne peuvent pas développer de spores endogènes.

Dans les essais faits à la température du laboratoire, cette décoloration est surtout très frappante dans les cultures du Sacch. ellipsoïdeus II et du Sacch. Pastorianus III, les deux espèces qui, dans les conditions données, développent régulièrement les voiles les plus forts. De même que la formation des voiles, la décoloration a lieu plus vite à de hautes qu'à de basses températures; c'est ainsi qu'elle était déjà très apparente

au bout de 7 jours dans les cultures décrites plus haut du Sacch. ellipsoïdeus II, aux températures comprises entre 26 et 35° C.

Cette décoloration rappelle beaucoup celle que les Saccharomyces peuvent provoquer dans d'autres circonstances, et dont j'ai dit quelques mots dans la note p. 120.[1])

Dans mes recherches sur les voiles, j'ai spécialement observé si leurs cellules développaient ou non des ascospores, et suis arrivé à ce résultat que cela n'a lieu que tout exceptionnellement lorsque le liquide nourricier est du moût de bière; car, bien que, pendant le temps considérable qu'ont pris les essais décrits plus haut, j'aie examiné un très grand nombre de préparations, ce n'est cependant que dans un seul cas que j'ai constaté la présence de quelques cellules avec ces organes de multiplication, et encore n'appartenaient-elles pas au voile, mais à la ceinture de levûre qui s'était étendue sur la paroi du ballon au-dessus de la surface du liquide. Il en était tout autrement des essais mentionnées p. 195 du texte danois, où, au lieu de moût, on employait comme liquide nourricier une décoction d'eau de levûre. De ces observations, on peut certainement tirer la conséquence, que les ascospores ne se produisent pas là où une fermentation de sucre peut avoir lieu, ni en général non plus lorsque le développement du voile est très marqué.

En 1879, M. Schmitz a découvert chez le Sacch. cerevisiæ (levûre de bière) des corps qu'il considère comme des noyaux cellulaires. D'après lui, il y a dans chaque cellule un noyau sphérique qui est logé dans le plasma environ au centre de la cellule. Il a également trouvé ces noyaux chez le Mycoderma vini dans des conditions analogues. En employant la méthode de préparation indiquée par M. Schmitz, j'ai observé des corps analogues chez les Saccharomyces suivants: levûre basse n° 1 de Carlsberg, levûre haute de Burton, Sacch. Pastorianus I et Sacch. Pastorianus II. Seulement j'ai constaté, du moins dans quelques cas, qu'ils n'étaient pas sphériques, comme l'indique M. Schmitz, mais discoïdes; ils n'étaient pas non plus, dans la règle, placés au centre de la cellule, mais tout aussi souvent à l'une de ses extrémités. Ayant eu l'occasion, il y a quelques années, d'aborder cette question avec M. le professeur Schmitz, nous finîmes par conclure, après avoir comparé nos préparations, que mes

[1]) J'ai communiqué, p. 193—195 du texte danois, quelques observations sur l'influence que la composition chimique du liquide nourricier a sur le développement des voiles et sur la forme des cellules qui les composent.

corps colorés en bleu étaient les mêmes que ceux qu'il avait découverts, Dans un de ses mémoires, il fait lui-même remarquer que le noyau, chez la même cellule, peut affecter différentes formes dans les différentes phases du développement; dans les jeunes cellules il est souvent sphérique, tandis que dans les cellules âgées, il devient discoïde avec un contour arrondi ou irrégulier. Bien que, dans ce passage, il ne soit pas question de cellules de levûre, je suppose cependant que là se trouve l'explication de la différence entre les observations de M. Schmitz et les miennes. Plus tard j'ai constaté qu'en traitant les cellules de levûre par l'acide osmique, et en les mettant ensuite dans de la glycérine diluée, on obtenait plus facilement des préparations tout aussi bonnes que les précédentes. Pour les recherches de MM. Zalewski et Krasser voir p. 197 du texte danois.

Dans le cours de mes expériences, j'ai également eu plusieurs fois l'occasion d'observer ces noyaux dans les cellules des voiles chez le Sacch. pastorianus I, le Sacch. Pastorianus II et le Sacch, ellipsoïdeus I, sans entreprendre aucune coloration, mais seulement en mettant les cellules en question dans une préparation microscopique ordinaire, dans un peu d'eau ou dans le mélange de glycérine de Hantsche. Je les ai trouvés dans les vieilles cultures mentionnées plus haut des ballons Pasteur faites à la température ordinaire d'un appartement, et de même dans des cultures faites dans des flacons à 14—6 ° C. Si leur apparition dans les voiles est limitée aux conditions et aux espèces indiquées ci-dessus, c'est ce que je ne saurais décider, comme je n'ai pas entrepris de recherches spéciales en vue de cette question.

Dans ce qui précède, les voiles des Saccharomyces ont été étudiés à différents points de vue; il nous reste encore à parler du mucilage qui se développe entre les cellules.

C'est un fait connu de tous les brasseurs que les cellules de levûre, au sein de la bière en fermentation, peuvent, sous certaines conditions encore inconnues, se réunir en amas irréguliers qui avec une facilité relative tombent au fond, de sorte que le liquide qui est au-dessus devient clair. On a prêté une grande attention à ce phénomène, et il est souvent mentionné dans les écrits tant scientifiques que techniques qui traitent de la levûre, mais on n'a pas encore réussi à l'expliquer. En soumettant la levûre de bière ordinaire à un traitement chimique, on a bien obtenu un hydrate de carbone, appartenant aux mucilages végétaux, qui est supposé provenir de la membrane des cellules, mais jusqu'ici il n'a pas été possible de résoudre cette question essentielle. On a également, pendant longtemps, vainement cherché avec le microscope des formations mucilagineuses chez les cellules de levûre. C'est seulement en 1884 que j'ai réussi à en découvrir (Botan. Centralblatt, B. XXI No. 6). J'ai plus tard poursuivi ces recherches, et en communiquerai ici en peu de mots les principaux résultats. Chez les Saccharomyces et des cellules de levûre

de plusieurs espèces qui ne développent pas de spores endogènes. il peut, sous certaines conditions, se produire des formations qui se présentent comme un réseau gélatineux composé de cordes ou de lames. Dans les mailles ou les vides de ce réseau sont logées les cellules. Les granulations qui se trouvent à l'origine entre celles-ci peuvent devenir partie intégrante du réseau, comme aussi lui donner une coloration. De même que le plupart des membranes gélatineuses, ce réseau n'est pas coloré en bleu par l'iode. Un moyen facile de l'obtenir consiste à mettre un amas de levûre épaisse, comme il y en a ordinairement dans les brasseries, dans un bocal qu'on recouvre ensuite et laisse quelque temps en repos. Il apparaît pendant que la levûre est encore suffisamment humide, mais ne se forme pas si le dessèchement est trop rapide. On l'observe généralement dans les cultures d'ascospores sur des blocs de plâtre et sur la gélatine. D'après une communication verbale de M. Alfred Jörgensen, ce réseau s'est aussi fréquemment montré dans les nombreuses préparations de levûre dans du papier à filtrer qui, dans les dernières années, ont de divers côtés été envoyées à son laboratoire.[1]) Ce n'est pas non plus un phénomène rare dans la pratique.

J'ai observé assez souvent cette formation de réseau chez le Sacch. cerevisiæ I, le Sacch. Pastorianus I, le Sacch. Pastorianus II, le Sacch. ellipsoïdeus I et le Sacch. ellipsoïdeus II, tant dans les voiles que surtout dans la ceinture de levûre qui se développe sur les parois des ballons, et aussi bien à de hautes qu'à de basses températures. J'ai lieu de croire qu'en poursuivant cette recherche dans les mêmes circonstances, on la trouvera aussi chez le Sacch. Pastorianus III: je l'ai en tout cas rencontrée plusieurs fois dans mes essais avec la levûre de dépôt de cette espèce.

Dans mes expériences sur la levûre ordinaire de mise en levain provenant des cuves de fermentation, j'ai constaté comme d'habitude qu'un examen microscopique des cellules dans cet état ne pouvait faire découvrir trace du réseau dont il s'agit ni, en général, de formations mucilagineuses. En produisant ensuite des colorations d'après plusieurs des méthodes ordinairement employées en bactériologie, le réseau a apparu très distinctement et sous une très jolie forme. La préparatiou microchimique durcit la masse mucilagineuse, qui prend alors une forme déterminée. Tandis que les cellules mêmes se colorent fortement, le réseau ne reçoit aucune coloration ou seulement une faible teinte. En procédant à un grand lavage, on peut obtenir une masse de levûre qui, traitée par les méthodes de coloration ci-dessus mentionnées, ne montre plus de réseau. Mais débarrasse-t-on les cellules de leur eau et les laisse-t-on reposer quelque temps, la masse mucilagineuse peut se reproduire et le réseau reparaître si la préparation est convenablement faite. Cela s'applique aussi aux nouvelles générations qu'on obtient en semant dans du moût les vieilles cellules lavées.

---

[1]) Sur cette manière commode de préparer de la levûre qui doit être envoyée au dehors et conservée pendant longtemps, on trouvera des renseignements dans mon mémoire cité plus haut sur la formation des ascospores, chapitre des méthodes, p. 29.



Comme on devait s'y attendre, cette formation mucilagineuse dépend de l'alimentation des cellules, en ce sens qu'en variant celle-ci on peut l'activer ou l'arrêter et exercer une action sur sa composition chimique.

Les questions dont il s'agit seront traitées avec détail dans un mémoire spécial accompagné des figures nécessaires, et qui donnera aussi des renseignements sur les rapports existant entre cette formation mucilagineuse et ce qu'on appelle Zooglœes chez les bactéries.

CONTRIBUTIONS DE MES PRÉDÉCESSEURS À LA CONNAISSANCE DE LA FORMATION DES VOILES CHEZ LES SACCHAROMYCES.

Les premières indications sur cette espèce de végétations se trouvent dans l'ouvrage remarquable pour l'époque de M. Reess, «Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze», 1870. Tandis que chez lui la description morphologique est la chose principale, l'expérimentation, chez M. Pasteur, occupe toujours le premier rang; c'est en somme, comme on sait, de ce éminent savant que date l'étude expérimentale moderne des microorganismes. Il a également donné des contributions à la principale question qui est traitée dans le présent mémoire.

Dans l'ouvrage souvent cité par moi, «Études sur la bière» 1876, se trouve, p. 201, une communication sur «un nouveau genre de levûres alcooliques, les levûres aérobies ou levûres-moisissures». M. Pasteur a remarqué qu'à la surface du liquide qui avait été le siège d'une fermentation alcoolique et abandonné ensuite longtemps à lui-même, il se formait un voile mycodermique ou, tout autour du bord de cette surface, une ceinture de levûre. C'est cette végétation de lévûre, observée par lui surtout dans la bière et des liquides nourriciers analogues, qu'il désigne sous les noms ci-dessus. Le développement le plus marqué et le plus rapide se produisait là où l'air avait le plus libre accès. De ces levûres aérobies, il est dit, p. 205, que, bien quelles ressemblent aux formes de la levûre d'origine, du moins en apparence, elles ne leur sont cependant pas identiques. «Dans la plupart de mes expériences», ajoute M. Pasteur, «j'ai vu la nouvelle levûre aérobie se comporter comme une levûre haute, montant à la surface, et donnant une bière qui a quelque chose de plus parfumé que la bière de la levûre basse dont elle émane. Enfin les propriétés d'une levûre aérobie ne sont pas propres à une première culture, elles sont héréditaires.» A la page 213, M. Pasteur soulève la question si la levûre haute employée dans l'industrie n'est pas la forme de levûre aérobie de la levûre basse, et ajoute: Je serais disposé à croire que la levûre que j'ai appelée nouvelle levûre haute pourrait bien être la levûre aérobie de la levûre basse des brasseries alsaciennes ou allemandes.» Mais plus en arrière dans son livre, p. 189, il est par la voie expérimentale arrivé à un autre résultat, à

savoir que la levûre haute et la levûre basse sont deux espèces différentes qui ne passent pas de l'une à l'autre; cependant l'idée que le contraire pourrait quand même être le cas l'a évidemment dominé de plus en plus pendant la rédaction de l'ouvrage. C'est ainsi que, à propos de la mise en levain (p. 333, note), il y revient encore. Il y donne en effet aux brasseurs une recette quant à la manière dont ils doivent traiter leur levûre basse, s'ils veulent empêcher qu'elle ne soit transformée en levûre haute par le développement de la levûre aérobie.

De ce qui précède, nous devons conclure que c'est l'opinion de M. Pasteur que «le nouveau genre de levûre» est une forme de développement de la levûre de dépôt ordinaire. Mais, dans la note p. 205, il exprime quelques doutes à cet égard et admet la possibilité que les formes de la levûre aérobie se soient trouvées à l'état de mélanges cachés dans masses de levûre avec lesquelles les expériences ont été faites. Il donne des raisons pour et contre cette manière de voir, sans pourtant arriver à résoudre ce point si important.

D'après M. Pasteur, les cellules de la levûre aérobie ont essentiellement la même forme que les cellules qui ont servi à l'ensemencement et que celles de la levûre de dépôt correspondante; la levûre aérobie de la levûre haute doit par conséquent, dans tous les cas, avoir des cellules rondes, etc. Par contre, il indique que les formations de voiles chez les diverses espèces, ont un aspect différent. Chez le Sacch. Pastorianus, la levûre aérobie forme à la surface du liquide, dans le voisinage de la paroi du ballon, un anneau qui se défait à la moindre secousse. La levûre aérobie de la levûre haute se montre sous forme de petits mamelons isolés à la surface du liquide fermenté. La levûre aérobie de la levûre basse forme une couche non cohérente qui, à la moindre secousse, tombe au fond comme une pluie de petites parcelles irrégulières, sans cependant troubler le liquide. Quant à la levûre aérobie de la levûre caséeuse, elle doit être caractérisée par la formation d'un voile épais, onctueux et continu, mais qui, de même que le précédent, se sépare en fragments lorsqu'on secoue le ballon.

Voilà, dans tous les points essentiels, ce que M. Pasteur a communiqué sur la levûre aérobie. En comparant avec ces résultats mes études précédentes sur les voiles des Saccharomyces, on a tout d'abord l'impression que ce sont probablement les mêmes phénomènes dont il est question; mais un examen plus attentif fait apercevoir de grands désaccords et naître des doutes à cet égard.

Le premier point que nous examinerons est l'assertion émise par M. Pasteur, que la levûre basse est aussitôt transformée en levûre haute par le développement de la levûre aérobie, et que les nouvelles propriétés ainsi acquises ne sont pas temporaires mais héréditaires. Pour résoudre cette question, j'ai entrepris un grand nombre d'expériences tant avec mes six espèces nommées plus haut qu'avec une race de levûre basse retirée d'une bière attaquée du trouble de la levûre[1]), la levûre basse n° 1

[1]) Emil Chr. Hansen. Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques (Résumé du compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2 Liv., 1883, p. 52 et suiv.).

de Carlsberg et enfin une espèce de levûre que j'appellerai dès à présent Sacch. exiguus, et sur laquelle je donnerai des renseignements plus détaillés dans un mémoire spécial. J'ai expérimenté aussi bien sur des voiles de formation récente que plus âgés, tous développés dans des cultures de moût à la température du laboratoire, par conséquent dans des conditions qui, autant que j'en puis juger, étaient les mêmes que celles dans lesquelles M. Pasteur opérait. Les ballons employés étaient en partie du modèle Pasteur, en partie du modèle Chamberland. Le voile formé par chacune des espèces ci-dessus mentionnées a servi à infecter un nouveau moût stérilisé, et j'ai ainsi comme auparavant toujours travaillé avec des cultures pures. Mes expériences peuvent se diviser en deux groupes. Dans l'un, les cellules semées non seulement dans les premiers ballons, mais aussi dans tous les suivants, provenaient toutes de végétations de voiles. En d'autres termes, un ballon *a* infecté avec une de ces végétations mycodermiques était abandonné à lui-même jusqu'à ce qu'il s'y fût développé un voile; avec ce voile on infectait le ballon *b*, dont le voile une fois formé servait à infecter la ballon *c*, etc. L'infection était donc constamment due aux voiles de formation nouvelle qui étaient transportés d'un ballon dans un autre jusqu'au dernier d'une longue série. Dans le deuxième groupe, au contraire, l'infection ne provenait d'un voile que dans le premier ballon de chaque espèce. Avec la levûre de dépôt qui s'y formait et avant que le voile s'y fût développé, on infectait le second ballon, et avec la levûre de dépôt de ce dernier, le troisième ballon, etc. L'infection, dans tous les ballons de chaque série de ce groupe, à l'exception du premier, était donc due à une levûre de dépôt. Les deux groupes d'expériences ont été exécutés à la température du laboratoire et à 26° C., en un mot dans des conditions qui, autant que nous sachions, doivent être regardées comme favorables pour provoquer des phénomènes de fermentation haute. Mais ils ne se sont cependant manifestés que dans les cas où les cellules semées à l'origine appartenaient à une forme de levûre haute. Les voiles de toutes les six espèces de levûres basses n'ont toujours développé que de la levûre basse.

Au cas que la levûre aérobie de M. Pasteur soit identique avec ma formation de voile, et qu'il ne se cache pas là-dessous quelque phénomène à moi inconnu, je dois supposer que la levûre basse dont il s'est servi pour ses expériences était mélangée de levûre haute. Comme il relève expressément que les transformations observées n'étaient pas d'une nature passagère, on ne saurait admettre qu'il se soit laissé tromper par cette particularité des Saccharomyces, qu'ils peuvent, après un certain traitement, produire pendant quelques fermentations des phénomènes de fermentation haute, après quoi ils reviennent à l'état normal. Ce n'est pas seulement au laboratoire, mais aussi dans les brasseries qu'on peut observer de pareils phénomènes (voir le texte danois, p. 203). Réciproquement, on peut exercer sur des formes types de levûre haute une action telle, que, pendant plusieurs générations, elles se comportent comme de la levûre basse; mais, dans ces cas aussi, cette transformation n'est que passagère.

Suivant M. Pasteur, les cellules de la levûre aérobie ne sont guère sujettes à variation, et sont, quant à la forme, semblables aux cellules

de la semence et à la levûre de dépôt qui en résulte. Que cette règle, en ce qui concerne mes voiles, n'ait qu'une valeur très conditionnelle, on le voit en jetant seulement un coup d'œil sur les planches qui accompagnent mon mémoire. Le désaccord qui se manifeste sur ce point entre les résultats de M. Pasteur et les miens, s'explique peut-être en partie par la circonstance que les expériences de M. Pasteur ont été faites à la température ordinaire d'un appartement, et qu'il a peut-être limité ses recherches microscopiques au premières phases du développement.

Selon M. Pasteur, les levûres aérobies des diverses espèces de levûres ont un aspect différent, d'après lequel on peut les distinguer l'une de l'autre. Comme il a été dit plus haut, tel n'était pas le cas pour les voiles que j'ai examinés. Même en n'opérant, comme M. Pasteur, qu'à la temperature ordinaire d'un appartement, la seule différence que j'ai observée sous ce rapport entre les six espèces se borne à ceci que, chez quelques-unes, le développement est plus marqué et plus raqide que chez les autres.

Si M. Pasteur, dans sa levûre aérobie, s'est trouvé en face du même phénomène que moi dans mes productions de voiles, il y a donc de grandes différences dans nos résultats. Nous nous plaçons en général à des points de vue différents dans nos études sur les ferments alcooliques; la raison en est en partie que M. Pasteur a surtout traité la question comme chimiste, moi, au contraire, comme botaniste.

En supposant que la levûre aérobie de M. Pasteur soit la même chose que mes voiles, le nom de levûre aérobie n'est pas bien choisi. Il en donne en effet lui-même, p. 115 de son ouvrage, cette définition qu'il doit désigner des organismes qui ne peuvent vivre sans air; mais nous savons que les cellules de mes voiles, lorsqu'elles sont submergées dans des liquides fermentescibles, peuvent les faire entrer en fermentation en dehors de l'influence de l'oxygène libre. Il est bien vrai qu'un abondant afflux d'air favorise le développement des voiles, mais on peut en dire autant du bourgeonnement et de la formation des ascospores (voir le texte danois, p. 204—205). Le plus essentiel d'ailleurs pour la formation des voiles est une surface libre et tranquille et non l'afflux de l'air. Si, par ex., on fait continuellement passer de l'air avec une force suffisante à travers des liquides nourriciers infectés de levûre, il ne se formera pas de voile, et on arrivera au même résultat en secouant de temps en temps le liquide.

L'autre nom de levûre-moisissure n'est également guère bien choisi. D'abord il est toujours fort douteux que les Saccharomyces, dont, pour ce qui me concerne, il est constamment question, soient des formes de développement de moisissures. Il en est en effet des recherches sur ce point comme de celles sur la génération spontanée, que tous les arguments produits jusqu'ici à l'appui de cette interprétation n'ont pu soutenir une épreuve exacte. Ensuite c'est une question encore ouverte, si les cellules de levûre, lorsqu'elles vivent dans des végétations de voiles à la surface du liquide, opèrent les mêmes transformations chimiques que les véritables végétations de moisissures; les recherches que j'ai commencées à ce sujet ne sont pas encore assez avancées pour que je puisse, en ce moment, me prononcer là dessus. Entre autres motifs qui s'opposent à l'introduction de nouveaux noms pour notre phénomène, on

peut aussi relever celui-ci, qui a déjà été mis en avant dans l'introduction au présent mémoire, à savoir que la formation des voiles chez les Saccharomyces n'est pas une forme de développement qui leur soit propre, mais au contraire un phénomène général dans la monde des microorganismes.

Mais si la levûre aérobie de M. Pasteur est un tout autre phénomène que celui qui est traité dans le présent mémoire, et si ce nom désigne des espèces particulières de levûres, comme un des disciples du maître l'a du moins compris, l'examen qui précède de la valeur des noms est naturellement superflu.

La raison pour laquelle nous ne pouvons pas décider avec certitude par l'ouvrage de M. Pasteur de quoi il est au fond question, c'est surtout, comme il le dit lui-même clairement dans la note citée, p. 205, qu'il n'était pas possible de déterminer s'il y avait dans chaque ballon une ou plusieurs espèces. Un autre motif d'incertitude est que, ni dans le chapitre de la levûre aérobie, ni en somme ailleurs, on ne voit s'il est question de Saccharomyces ou seulement de cellules ressemblant à des Saccharomyces. Les mots Saccharomyces et levûres désignent en effet, chez M. Pasteur, des ferments alcooliques en général, avec une faculté fermentative bien prononcée et des cellules de levûres bourgeonnantes, par conséquent des organismes qui peuvent appartenir à des divisions très différentes dans notre système actuel. D'après sa manière de voir (p. 164, 165, 177), ce sont des formes de développement de certaines moisissures encore peu connues ressemblant à des Dematium. Sur la question de l'espèce, qui est en étroite connexion avec ce qui précède, M. Pasteur n'a émis aucune opinion arrêtée. Dans quelques endroits, par ex. p. 147, il semble croire que les organismes dont il s'agit ont des caractères spécifiques constants; dans d'autres, par ex. p. 193, le lecteur attentif reçoit l'impression qu'ils ont une faculté illimitée de variation et qu'il n'y a pas d'espèces parmi eux. Ces deux opinions contraires sont exprimées dans le chapitre sur la levûre aérobie, que nous avons surtout examiné.

Mais pour comprendre ce célèbre ouvrage comme il doit l'être, nous devons toujours retenir que son but, dans ce domaine, était seulement de donner une série de recherches provisoires. Exécuter jusqu'au bout ces recherches n'était guère possible au point où se trouvait alors la sciencc, et depuis lors, chacun le sait, l'illustre savant a consacré ses forces à de tout autres problèmes, des problèmes dont la solution a ouvert un monde nouveau à la médecine et à la biologie.

RÉCAPITULATION.

Dans la première partie de ce mémoire, j'ai fait voir que la formation des voiles est un phénomène très commun dans le monde des microorganismes, et qu'elle a lieu aussi bien chez les bactéries que chez les champignons proprement dits et chez des formes appartenant aux différentes divisions dans le système (p. 106—109).

Nous avons aussi observé cette formation chez les Saccharomyces, et en particulier appris que les végétations, dans les voiles des vieilles cultures, développent, dans les conditions indiquées, des cellules plus allongées et, en général, des colonies plus complexes que les végétations de la semence correspondante; le Sacch. cerevisiæ et le Sacch. ellipsoïdeus du système étaient par là transformés en Sacch. Pastorianus; il s'est produit aussi un développement de cellules filiformes et ressemblant à des bactéries (p. 109—112 et Fig. 3, Pl. III—VIII), Ces observations ont servi de point de départ à des expériences méthodiques avec les six espèces mentionnées dans mes mémoires antérieurs,

Nous avons trouvé qu'une des conditions pour qu'il se produise sous ce rapport un développement bien marqué, c'est que la levûre sur laquelle on opère ait largement accès à l'air atmosphérique. Les expériences ont en conséquence été faites dans des flacons à demi remplis, coiffés de papier à filtrer stérilisé, et on a en outre employé un liquide nourricier favorable, à savoir du moût de bière (p. 112).

En examinant au microscope les cellules de l'ensemencement de cultures pures homogènes, nous avons trouvé qu'elles pouvaient étre rapportées à trois divisions, dont l'une comprend le Sacch. cerevisiæ I, la deuxième, les trois espèces du groupe Sacch, Pastorianus, et la troisième, les deux espèces du groupe Sacch. ellipsoïdeus (p. 112—113 et Pl. I—II).

Les tableaux, p. 114—115, nous donnent un aperçu du développement des voiles á différentes températures. Nous avons surtout appris par là que les premières phases de ce développement, à 13—15 ^{0} C., représentées Fig. 2, Pl. IV—VIII et Fig. 1, Pl. III, présentent des différences bien marquées entre plusieurs de nos six espèces. Il est particulièrement important pour nous que le Sacch. Pastorianus II et le Sacch, Pastorianus III, les deux espèces qui sont des levûres hautes, et dont les cellules de l'ensemencement ne peuvent avec certitude être distinguées les unes des autres, apparaissent ici avec des végétations complètement différentes; il en est de même du Sacch. ellipsoïdeus I et du Sacch. ellipsoïdeus II, deux espèces dont les semences sont similaires, Il est en outre intéressant de voir comment le Sacch. ellipsoïdeus I si caractérisé dans la semence par ses cellules ovales, a formé ici des colonies ressemblant à du mycelium, et est devenu un des Sacch. Pastorianus du système, tandis que le Sacch. Pastorianus II s'est comporté d'une manière inverse. Nous avons vu également que le développement est plus ou moins rapide et marqué chez les différentes espèces, et que leurs températures limites sous ce rapport sont aussi différentes (p. 114—119).

Nous avons constaté que le bourgeonnement et la fermentation ont lieu au-dessus d'une température à laquelle, dans les mêmes circonstances, aucun voile ne peut se développer. et que les espèces qui ont les températures maxima les plus élevées pour le bourgeonnement et la fermentation, les ont aussi pour la formation des voiles (p. 119).

En examinant la levûre de dépôt de nos cultures, nous avons vu que, dans quelques cas, elle était pâteuse, dans d'autres au contraire, membraneuse et plissée ou caséeuse, et que la même espèce, par un certain traitement, peut être amenée à produire chacune de ces levûres de dépôt, Ces cellules ont aussi présenté des différences de forme non sans valeur au point de vue systématique, et nous avons de nouveau appris que la même espèce, sous diverses influences extérieures, peut se comporter tout différemment et avoir un cachet tout différent; mais nous avons en même temps reconnu qu'il y a des limites à cette influence, et que nos six espèces réagissent d'une manière différente (p. 119).

Un des résultats pratiques de mes recherches est en particulier celui-ci, qu'elles m'ont conduit à une méthode pour l'analyse de la levûre des brasseries. Celles plus récentes qui sont exposées plus haut y ont aussi contribué. Ces travaux, comme tous ceux que j'ai éxecutés pour l'industrie, demeurent ou tombent avec la supposition que les Saccharomyces se comportent comme des espèces, des variétés ou des races, ou, en d'autres termes, que les caractères établis par moi sont constants. C'est aussi contre ce point que mes honorés adversaires, à Berlin, ont dirigé leur principale attaque (p. 120).

Tandis que la première partie du second chapitre traite surtout de la question principale qui domine toutes mes études sur les microorganismes, à savoir celle des espèces et de leur délimitation, la fin, au contraire, contient une série de renseignements divers sur d'autres points: sur la décoloration que les voiles déterminent dans le moût de bière (p. 124), sur l'influence que la composition chimique du liquide nourricier exerce sur le développement des voiles et la forme de leurs cellules (p. 125), sur la formation des spores endogènes (p. 125) et des noyaux dans les cellules des voiles (p. 125) et sur les formations mucilagineuses découvertes par moi, il y a deux ans, chez les cellules de levûre (p. 126).

Les contributions de mes prédécesseurs à la connaissance des voiles chez les Saccharomyces sont exposées p. 128—132. Nous avons trouvé chez M. Reess les premières indications de végétations de ce genre. M. Pasteur nous fournit des contributions plus étendues dans son célèbre ouvrage »Études sur la bière«. Au premier coup d'œil, il semble en effet que la levûre aérobie ou la levûre moisissure de M. Pasteur doive être la même chose que mes voiles; mais une étude plus approfondie nous montre un grand désaccord, et la question devient douteuse. Tandis que M. Pasteur, dans quelques endroits, semble croire que sa nouvelle levûre est une forme de développement de la levûre ordinaire de dépôt, il admet ailleurs la possibilité que les formes de la levûre aérobie se soient trouvées à l'état de mélanges cachés dans la levûre dont il s'est servi pour ses expériences; dans ce cas, ce sont donc des espèces particulières de levûres, et M. Pasteur s'est alors trouvé en face d'un autre

phénomène que celui dont je me suis occupé. L'étude détaillée à laquelle j'ai soumis le chapitre de la levûre aérobie dans l'ouvrage de l'illustre savant a d'ailleurs de nouveau montré que, dans nos recherches sur les levûres alcooliques, nous nous sommes placés à des points de vue différents.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Toutes les figures ont un grossissement linéaire de 1000 fois. Les Pl. I et II représentent de jeunes et vigoureuses végétations dans de la levûre de dépôt ordinaire provenant de cultures dans du moût de bière (p. 112—113). Sur les Pl. III—VIII, sont représentées les végétations de voiles qui s'en sont développées à différentes températures et dans des temps différents (p. 109—118).

Planche I.

Fig. 1. Saccharomyces cerevisiæ I, p. 113.
- 2. Saccharomyces Pastorianus I, p. 113.
- 3. Saccharomyces Pastorianus II, p. 113.

Planche II.

Fig. 1. Saccharomyces Pastorianus III, p. 113.
- 2. Saccharomyces ellipsoïdeus I. p. 113.
- 3. Saccharomyces ellipsoïdeus II, p. 113.

Planche III.

Saccharomyces cerevisiæ I. p. 109, 114, 116.
Fig. 1. Végétations de voiles à 15—6 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 34—20 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

Planche IV.

Saccharomyces Pastorianus I, p. 110, 114, 116.
Fig. 1. Végétations de voiles à 28—20 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 15—3 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

Quelques-unes des cellules allongées dans la Fig. 1 ne sont pas bien dessinées.

Planche V.

Saccharomyces Pastorianus II, p. 110, 114, 116,
Fig. 1. Végétations de voiles à 28—20 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 15—3 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

Planche VI.

Saccharomyces Pastorianus III, p. 110, 115, 116
Fig. 1. Végétations de voiles à 28—20 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 15—3 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

Planche VII.

Saccharomyces ellipsoïdeus I, p. 110, 115, 116,
Fig. 1. Végétations de voiles à 34—20et à 6—7 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 15—13 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

Planche VIII.

Saccharomyces ellipsoïdeus II, p. 110, 115. 116.
Fig. 1. Végétations de voiles à 38—20 ° C.
- 2. Végétations de voiles à 28—3 ° C.
- 3. Végétations de voiles dans de vieilles cultures.

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

ANDET BIND.

FØRSTE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1883.

Pris: 40 Øre.

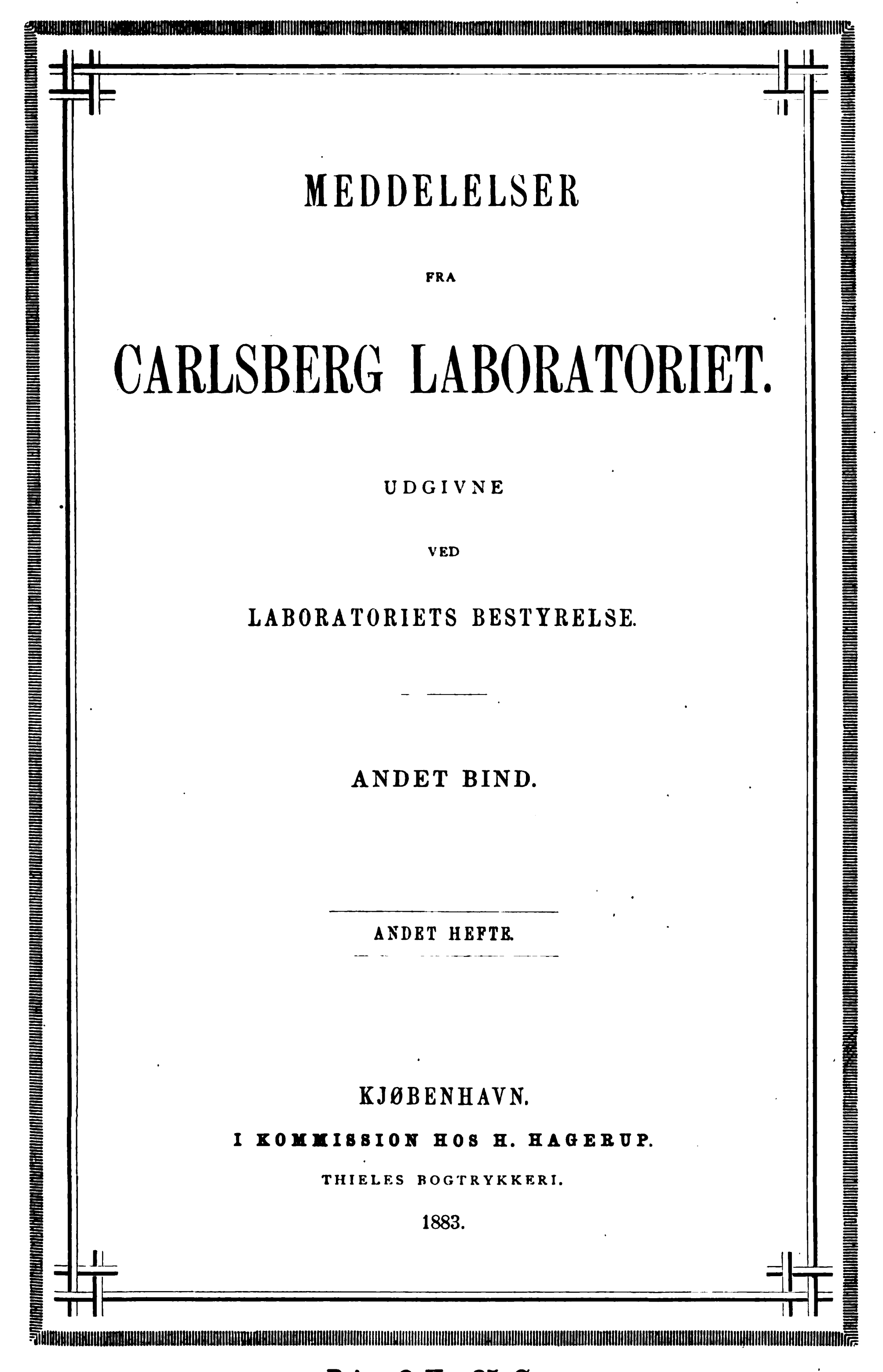
Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaa i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

INDHOLD.

Side

J. Kjeldahl: En ny Methode til Kvælstofbestemmelse i organiske Stoffer. 1.



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

ANDET BIND.

ANDET HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1883.

Pris: 2 Kr. 35 Øre.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaae i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

P. 68, 17 Linie f. o. tilføjes: Mine Figurer ere blevne lidt for skematisk tegnede. De minde noget om Reess's Afbildninger af spirende Sporer.

INDHOLD.

Side

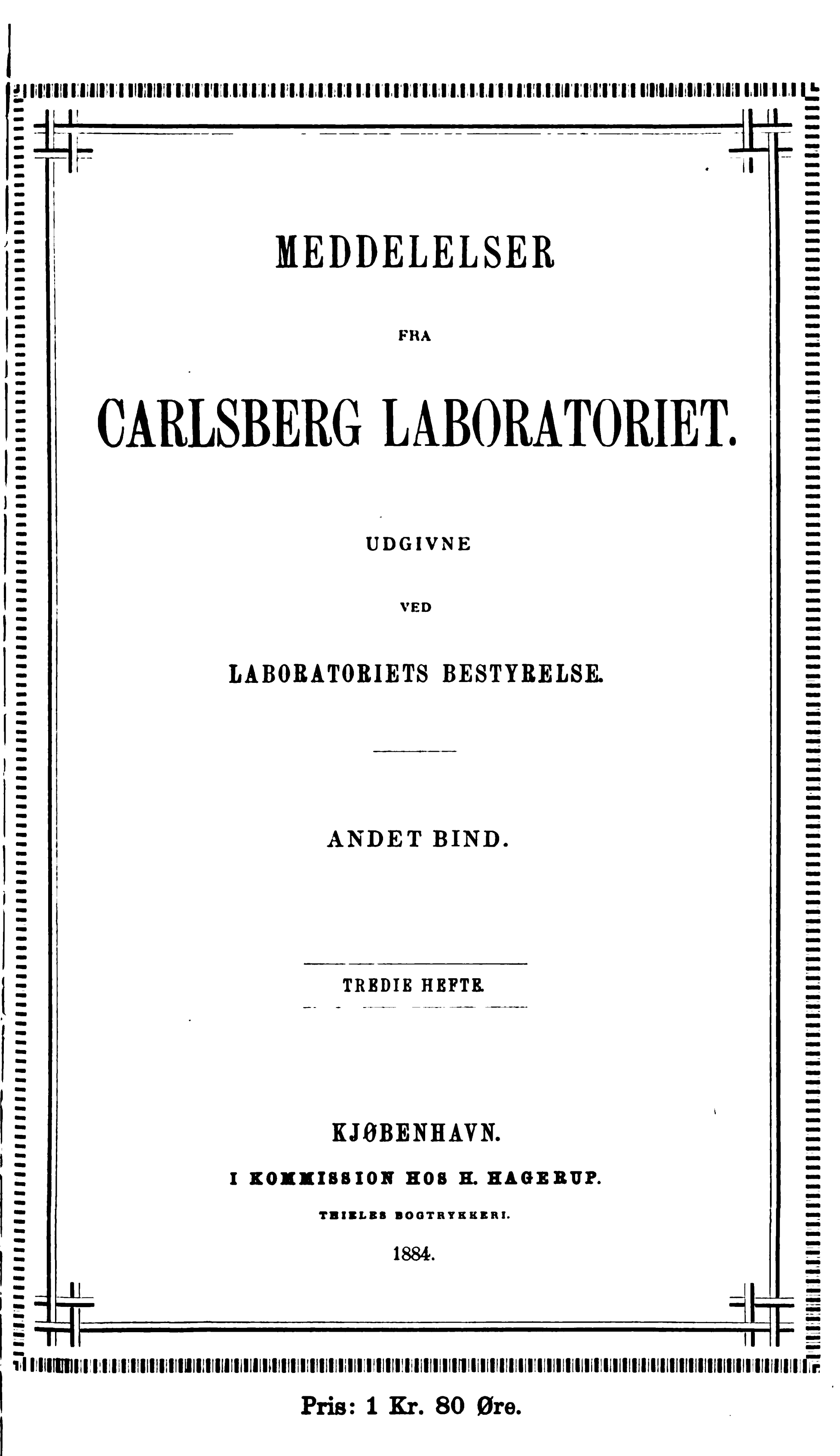
Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi ... 29
II. Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces (med 2 Træsnit og 3 Tavler) ... 29
Hvad have vi hidtil vidst herom? ... 29
Methoder ... 46
Experimenter ... 66
Tilbageblik ... 80
Forklaring over Tavlerne ... 86
III. Om Pasteurs Torula (med 3 Træsnit) ... 87
IV. Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe ... 93

RÉSUMÉ.

Pg.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par Emil Chr. Hansen ... 13
II. Les ascospores chez le genre Saccharomyces. (Avec 3 planches et 2 figures dans le texte) ... 13
Qu'avons-nous su jusqu'ici à ce sujet? ... 13
Méthodes ... 20
Expériences ... 31
Récapitulation ... 43
Explication des planches ... 47
III. Sur les Torulas de M. Pasteur. (Avec 3 figures dans le texte) 47
IV. Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques 52

Avec la quatrième livraison du premier volume, on a commencé à publier à part le résumé français du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

ANDET BIND.

TREDIE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1884.

Pris: 1 Kr. 80 Øre.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

udgaa i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

INDHOLD.

Side

W. Johannsen: Om Frøhviden og dens Udvikling hos Byg (med 3 Tavler) 103

Lavrits Knudsen: Om Vedligeholdelse af konstant Temperatur (med 3 Træsnit) 134

RÉSUMÉ.

Pg.

Développement et constitution de l'endosperme de l'orge. (Avec 3 planches). Par W. Johannsen 60

Sur un appareil à température constante. (Avec 3 figures dans le texte). Par L. Knudsen 78

Avec la quatrième livraison du premier volume, on a commencé à publier à part le résumé français du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET

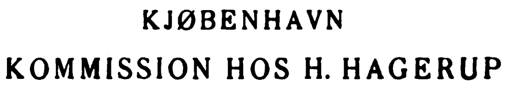
UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE

ANDET BIND

FJERDE HÆFTE


KJØBENHAVN

KOMMISSION HOS H. HAGERUP

H. H. THIELES BOGTRYKKERI

1886

Pris 3 Kr. 35 Øre

Alle Temperaturangivelser efter *Celsius*.

kg.	Kilogram.	l.	Liter.
g.	Gram.	cm^3	Kubikcentimeter.
cg.	Centigram.	cm.	Centimeter.
mg.	Milligram.	mm.	Millimeter.
		μ.	Mikromillimeter.

MEDDELELSER FRA CARLSBERG LABORATORIET

udgaa i tvangfri Hæfter. Naar der er udkommet saa mange Hæfter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsfortegnelse med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

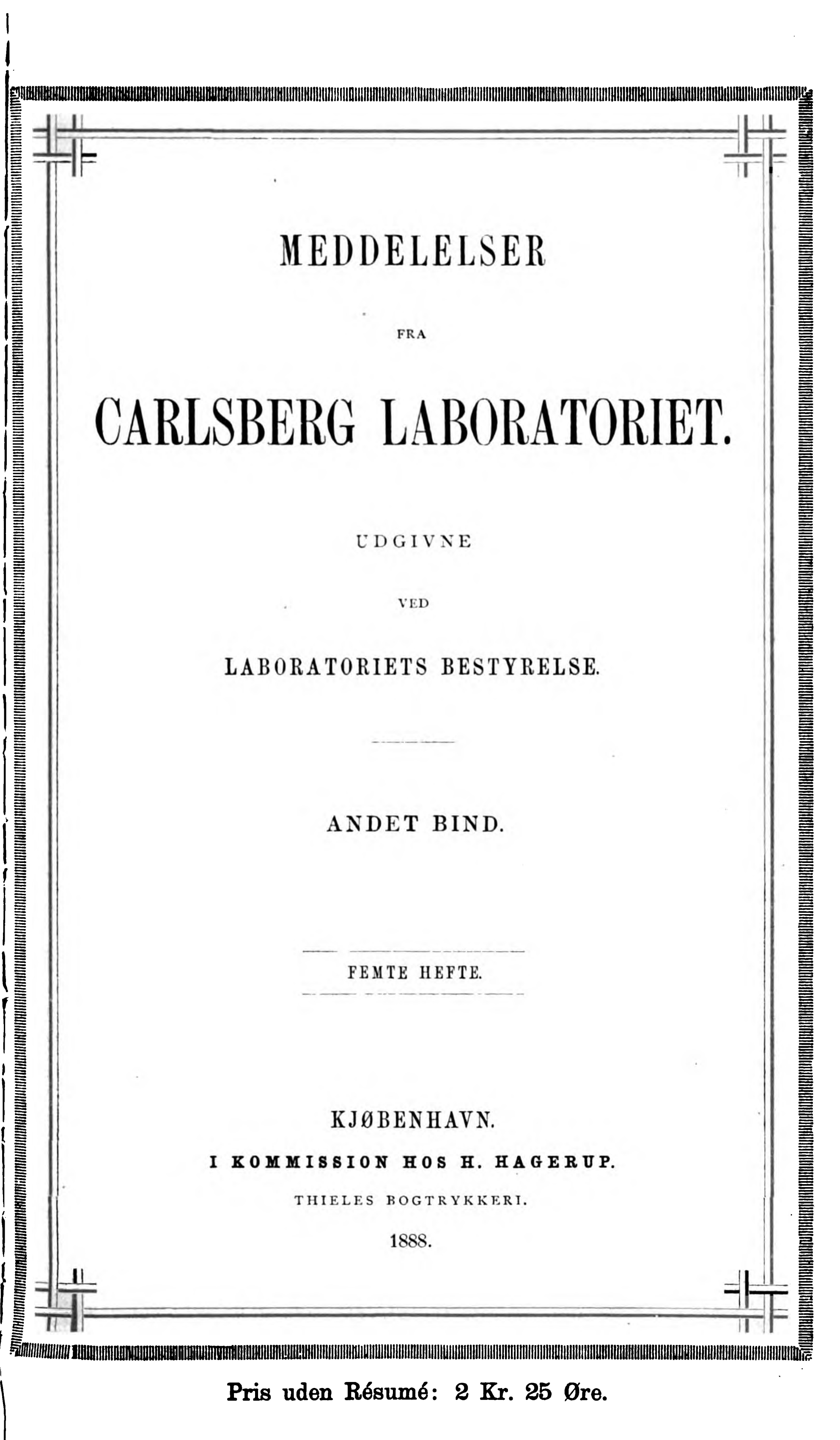
INDHOLD

JUST CHR. HOLM og S. V. POULSEN: Hvor ringe en Infektion af »vild Gjær« kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af Saccharomyces cereviciæ? 147
EMIL CHR. HANSEN: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 152
V. Methoder til Fremstilling af Renkulturer af Saccharomyceter og lignende Mikroorganismer (med 4 Træsnit) 152
VI. Om Hindedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Hertil Tavle I—VIII) 168
Almindelige Iagttagelser 168
Experimenter 176
Mine Forgængeres Bidrag til Kundskaben om Hindedannelsen hos Saccharomyceterne 200
Tilbageblik 206
Forklaring over Tavlerne 209

RÉSUMÉ

Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de »levûre sauvage« dans une masse de levûre basse de Saccharomyces cerevisiæ? Par JUST CHR. HOLM et S. V. POULSEN 88
Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par EMIL. CHR. HANSEN 92
V. Méthodes pour obtenir des cultures pures de Saccharomyces et de microoganismes analogues. (Avec 4 figures dans le texte) 92
VI. Les voiles chez le genre Saccharomyces. (Avec les planches I—VIII) 106
Observations générales 106
Expériences 112
Contributions de mes prédécesseurs à la connaissance de la formation des voiles chez les Saccharomyces ... 128
Récapitulation 133
Explication des planches 135

Avec la quatrième livraison du premier volume, on a commencé à publier à part le résumé français du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.



MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

ANDET BIND.

FEMTE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1888.

Pris uden Résumé: 2 Kr. 25 Øre.

INDHOLD.

Side

Just Chr. Holm og S. V Poulsen: Hvor ringe en Infektion af „vild Gjær" kan efter Hansens Methode paavises i en Undergjærmasse af Saccharomyces cerevisiæ? (med 1 Træsnit) 211

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 220

VII. Om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne (med 6 Træsnit) 220

1. Indledning p. 220.
2. Saccharomyces p. 222. Sacch. Marxianus p. 222. Sacch. exiguus p. 224. Sacch. membranæfaciens p. 225. Resultater p. 227.
3. Alkoholgjærsvampe med saccharomyceslignende Celler p. 229. Mycoderma cerevisiæ p. 229. Sacch. apiculatus p. 230. Pasteurs Torula p. 231. Monilia candida p. 234. Resultater p. 244.
4. Mucor p. 245. Mucor erectus p. 246. Mucor spinosus p. 247. Mucor Mucedo p. 248. Mucor racemosus p. 249. Resultater p. 250.
5. Oidium lactis p. 252.
6. Tilbageblik p. 252.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis 257

I. Indledning 257

II. Gjær-Rendyrkningen i Industriens Tjeneste (med 10 Træsnit) 259

1. Om Indførelsen af rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærarter i Bryggeridriften og de herved vundne Resultater p. 259. Hvori det nye Fremskridt bestaar p. 259. Mine Forgængeres Bidrag p. 261. De vundne praktiske Resultater p. 264.
2. Den fabrikmæssige Fremstilling af rendyrket Gjær p. 272. Forarbejderne p. 272. Min gamle Fremgangsmaade p. 276. Rendyrkningsapparatet p. 281. Om Filtrene p. 294. Fremstillingen af Gjæren til Rendyrkningsapparatet og dens Forsendelse p. 298. Fortegnelse over de Bryggerier, i hvilke Rendyrkningsapparatet findes, p. 303.

III. Iagttagelser over Bryggeri-Gjærarter 305

IV. Om den praktiske Undersøgelse af Øllet i Lagerfadene med Hensyn til dets Holdbarhed 317

J. Kjeldahl: Nogle Bemærkninger om den jodometriske Syretitrering .. 323

J. Kjeldahl: Et Destillationsapparat til Brug ved Kvælstofbestemmelse (med 1 Træsnit) 330

W. Johannsen: Om Gluten og dets Plads i Hvedekornet (med 3 Træsnit) 332

Carlsberg Laboratoriet .... 357.













